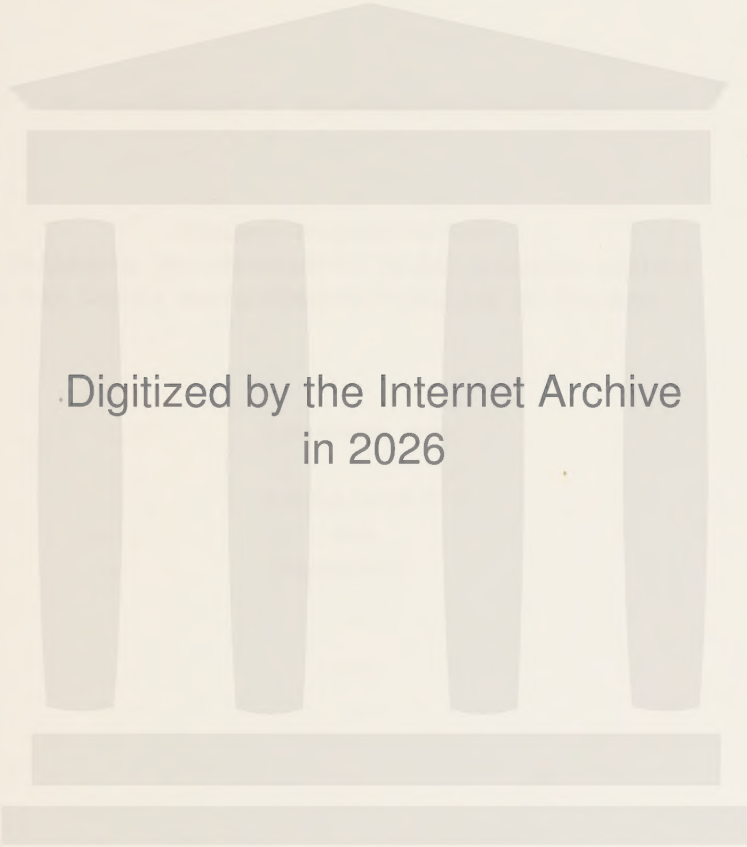


VIRUS - INDUZI ERTE
CHROMOSOMENABERRATIONEN

GABRIELE ALFF

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. H. Spiess

Virus-induzierte Chromosomenaberrationen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Gabriele Alff
aus
Ingolstadt

1975

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität
München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. J.-D. Murken

Mitberichterstatter: Prof. Dr. H. Spiess

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Dezember 1975



I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1. E I N L E I T U N G	4
2. A L L G E M E I N E R T E I L	5
2.1 Identifikation und Klassifikation der Chromosomen	5
2.2 Methodik und Material zur Chromosomenanalyse	6
2.3 Bedingungen für Änderungen der Chromosomen- struktur	8
2.3.1 uneinheitlicher Genese	8
2.3.1.1 in vitro	8
2.3.1.2 in vivo	8
2.3.2 durch ionisierende Strahlen	10
2.3.3 durch chemische Substanzen	10
2.3.4 durch Viren	12
2.3.4.1 Klassifikation der Viren nach MELNICK	12
2.3.4.2 weitere Möglichkeiten der Klassifizierung	16
2.3.4.3.1 Begriff des cytopathischen Effektes	
2.3.4.3.2 Begriff der Zelltransformation	
2.4 Typen von virus-induzierten Chromosomen- brüchen	17
2.4.1 numerische Aberrationen	17
2.4.2 strukturelle Aberrationen	18
2.4.2.1 Klassifikation nach BAUCHINGER und HUG (1966)	22
2.5 Theorien zur Bruchentstehung	23
2.5.1 indirekte Wirkung auf den DNS-Stoffwechsel	23
2.5.2 Wirkung über Enzyme	25
2.5.2.1 zelluläre DNasen	
2.5.2.2 lysosomale DNasen	
2.5.3 direkte Wirkung auf die DNS	26
2.5.4 direkte Wirkung auf die Chromosomenmatrix	27
2.5.5 weitere Möglichkeiten	28

3. S P E Z I E L L E R T E I L	29
3.1 D N S - V I R E N	29
3.1.1 Parvoviren	29
3.1.2 Papovaviren	29
3.1.2.1 SV 40 - Virus	30
3.1.2.2 Polyoma-Virus	32
3.1.2.3 Shope-papilloma-Virus	33
3.1.3 Adenoviren	33
3.1.4 Herpesviren	39
3.1.4.1 Herpes simplex-Virus	39
3.1.4.2 Varizellen-Virus	43
3.1.4.3 Zytomegalie-Virus	45
3.1.4.4 Epstein-Barr-Virus	45
3.1.5 Pockenviren	50
3.1.5.1 Vaccinia-Virus	50
3.2 R N S - V I R E N	53
3.2.1 Picornaviren	53
3.2.1.1 Enteroviren	53
3.2.1.2 andere Picornaviren	57
3.2.2 Reoviren	57
3.2.3 Arboviren	59
3.2.3.1 Gelbfieber-Virus und Dengue-Virus	59
3.2.4 Myxoviren	60
3.2.5 Paramyxoviren	62
3.2.6 Rhabdoviren	67
3.2.7 Leukoviren	67
3.2.7.1 Rous-Sarkom-Virus	67
3.2.7.2 murine Leukoviren	68
3.2.8 Arenoviren	71
3.2.9 Togaviren	71
3.2.10 Coronaviren	73
3.2.11 noch nicht klassifizierbare Viren	73
3.2.11.1 Hepatitisvirus	73

3.2.11.2	"Candidate-Hepatitis"-Virus	82
3.2.12	Anhang: Mykoplasmen	82
	Rickettsien	
4.	D I S K U S S I O N	84
4.1	Mögliche Ursachen für unterschiedliche Ergebnisse	84
4.2	Biologische Bedeutung der virus-induzierten Chromosomenschäden	86
4.2.1	Teratogenese	86
4.2.2	Mutationen in den Keimzellen	87
4.2.3	Mutationen in den somatischen Zellen	88
4.2.3.1	Karzinogenese	89
4.2.3.2	Autoimmunprozesse	90
4.2.3.3	Alterungsprozesse	91
5.	Z U S A M M E N F A S S U N G	92
	L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	95

1. EINLEITUNG

Die Arbeit von HAMPAR et al. (1961, zit. n. WEIDERT), in der diese Autoren über die Möglichkeiten berichten, in Gewebekulturen des chinesischen Hamsters durch Infektion mit Herpes simplex - Virus Chromosomenaberrationen zu erzeugen, weckte das Interesse für die Viren hinsichtlich dieser neuen Rolle als offenbar potentiell chromosomen - schädigende Faktoren. Bis dahin kannte man im wesentlichen nur zwei Gruppen von Agenzien, die Schäden an den Chromosomen setzen können: ionisierende Strahlen und chemische Substanzen. Nun waren die in der Umwelt des Menschen allgegenwärtigen Viren hinzugekommen und man sah einen neuen weg, bei der Auflösung der Problemkreise um die Ätiologie der Mutationen, der Teratogenese und der Cancerogenese, weiterzukommen.

Über das Ausmaß der virus - induzierten Chromosomenaberrationen und ihre Entstehungsmechanismen besteht allerdings bis heute im einzelnen noch keine Klarheit. So kann das Ziel dieser Arbeit auch nur sein , die neuesten Forschungsergebnisse zu diskutieren und durch die Gegenüberstellung der Einzelbeobachtungen die Gemeinsamkeiten und Widersprüche der Ergebnisse aufzuzeigen.

2.1 Identifikation und Klassifikation der Chromosomen

Durch die Arbeiten von PATAU (1961) wurden die menschlichen Chromosomen nach dem 1960 in Denver erarbeiteten System ihrer Größe und der Lage des Centromers entsprechend geordnet.

Die Autosomen wurden von 1 - 22 numeriert, nach einem Vorschlag von PATAU, und in Gruppen mit den Buchstaben A - G klassifiziert. Die Geschlechtschromosomen wurden mit den Symbolen X und Y versehen und morphologisch den Gruppen C und G zugeordnet. TJIO und LEVAN hatten 1956 den menschlichen Chromosomensatz endgültig mit 46 Chromosomen bestimmt.

2.2 Methodik und Material zur Chromosomenanalyse

Chromosomenuntersuchungen in größerem Umfang wurden erst möglich, nachdem es MOORHEAD et al. (1960) gelungen war, periphere Blutleukozyten zu züchten und für die Chromosomenanalyse vorzubereiten. Dieses Verfahren bietet uns die Gelegenheit, "in vivo" - Untersuchungen bei akut an Virusinfektionen erkrankten Probanden oder an Impfungen anzustellen. Daneben werden Gewebekulturen menschlicher und tierischer Abstammung experimentell für die "in vitro" - Infektion mit Viren und anschließender Chromosomenpräparation herangezogen.

Eine Weiterentwicklung der Methode von MOORHEAD et al. wurde von ARAKAKI et al. (1963) angegeben. Bei dieser Mikromethode genügen einige Tropfen Kapillarblut für eine Chromosomenanalyse. Im folgenden sollen die wichtigsten Punkte dieser Methode beschrieben werden. (Genaue Beschreibung vergl. WEIDERT 1969)

1) 0,2 ml Kapillarblut wird zusammen mit dem Pflanzenextrakt Phytohämagglutinin (PHA) und einem speziellen Chromosomenmedium für 65 - 72 Std. bei 36 - 37 ° C inkubiert.

Durch das PHA werden die T - Lymphozyten (vergl. UNGLAUB - LEISTEN, 1973) in blastenförmige, teilungsfähige Zellen transformiert und treten in die Mitose ein. Es handelt sich dabei um eine Immunreaktion, in der PHA als unspezifisches Antigen wirkt und die T - Lymphozyten bei Zufuhr von PHA mit Proliferation reagieren. Außerdem bewirkt PHA eine Agglutination der hinderlichen Erythrozyten.

2) 3 Stunden vor der Beendigung der Inkubation wird zur Anreicherung der Metaphasen dem Medium das Spindelgift Colchizin zugesetzt.

3) Nach der Inkubation erfolgt mehrmaliges Zentrifugieren mit Absaugen des Überstandes.

- 4) Der Rest Bodensatz wird mit warmem Aqua dest. gemischt und nochmals für 15 Minuten bei 37 °C inkubiert. Es erfolgt eine hypotone Quellung der Metaphasezellen, wodurch die Zellmembran aufgelöst wird und die Spindelfasern zerstört werden.
- 5) Nach schonender Zentrifugation und Absaugen des Überstandes bis auf 0,5 ml wird Fixierflüssigkeit zugegeben. Zentrifugieren, Absaugen und erneute Zugabe von Fixatur werden so oft wiederholt, bis der Bodensatz klar ist.
- 6) Die Zellsuspension wird auf gekühlte, fettfreie Objektträger ausgetropft.
- 7) Nach 24 - stündiger Lufttrocknung erfolgt die Färbung mit GIEMSA - Lösung. Nach Abspülung der Farblösung und Trocknung der Präparate werden sie in LUKITT eingebettet.

Die Entwicklung neuer Techniken in den letzten Jahren, mit deren Hilfe es möglich wurde, jedes einzelne Chromosom und seine Abschnitte zu identifizieren und zu unterscheiden, bedeutete einen großen Fortschritt für die Chromosomenforschung. So bedient man sich heute der Giemsa-Technik oder fluoreszierender Farbstoffe, die es ermöglichen, Bandenmuster darzustellen, die für jedes Chromosom spezifisch sind. (zit. n. :IRSCHHORN et al. 1973, HANSMANN 1973)

Gelegentlich ist es zweckmäßig, Anaphasenpräparationen zu analysieren (vergl. 2.4.2). Neben dem Vorteil, bestimmte Aberrationstypen eindeutig identifizieren zu können, bringen sie allerdings den Nachteil mit sich, daß die Chromosomenmorphologie wesentlich unbefriedigender ist als in den Metaphasepräparationen. (NICHOLS 1973)

2.3 Bedingungen für die Änderung der Chromosomenstruktur

2.3.1 uneinheitlicher Genese

2.3.1.1 in vitro

Alle Zellen zeigen unter normalen Kulturbedingungen eine gewisse Rate " spontaner " struktureller Chromosomenaberrationen; spontan, das heißt, daß keine endogenen oder exogenen auslösenden Faktoren bekannt sind. Änderungen der Kulturbedingungen können zu einem Anstieg der Aberrationsfrequenz führen.

So konnte zum Beispiel zeitweilig erniedrigte Temperatur - - 5°C für 3 Tage - in menschlichen, embryonalen Lungenzellen in 20 - 40 % der Metaphasen strukturelle Anomalien induzieren. (HAMPEL et al. 1964 zit. n. GRAF) Ein Mangel an essentiellen Aminosäuren im Kulturmedium hat eine erhöhte Bruchquote zur Folge. (AULA et al. 1967, FREED et al. 1969, vergl. 2.5.4

2.3.1.2 in vivo

Die Chromosomenanalyse beim Gesunden bringt den Nachweis offenbar spontan auftretender struktureller Chromosomenanomalien in 0 - 12,5 % der Zellen. (BOCHKOV 1972, BROGGER 1971) Eine Abhängigkeit von Alter und Geschlecht läßt sich nicht erkennen (RIEGE 1970), allerdings hatten Frühgeborene eine höhere Aberrationsquote als ausgetragene Neugeborene. (BOCHKOV 1972) Ob die Chromosomenschäden tatsächlich " in vivo " spontan auftreten, oder ob diese ein Produkt der " in vitro " Kultivierungsmethoden sind, läßt sich nicht mit Sicherheit nachweisen, doch spricht gegen letzteres, die von Mensch zu Mensch unter gleichen Kultivierungsbedingungen unterschiedliche Aberrationsquote. Einen geringen Anstieg numerischer Aberrationen (5,8 % im Vergleich zu 2,9 % in den Kontrollen) in Form von hypo-

diploiden Chromosomensätzen mit $n = 45$ konnte RIEGE (1970) bei seinen Untersuchungen an 75 - 100 + Jährigen feststellen.

Es sind bis heute drei seltene, autosomal - rezessive Erbbliden bekannt, die mit einer gesteigerten Rate spontaner Chromosomenanomalien einhergehen, die Ataxia teleangiectasia, die Fanconi - Anämie und das Bloom - Syndrom. (PFEIFFER 1969, HIGURASHI et al. 1973 ^a, SCHROEDER 1973)

Die Befunde fasst folgende Tabelle zusammen :

	Fall	Alter	Anzahl d. unter- suchten Zellen	Anzahl d. Aberrat.	Durchsch. pro Zelle
Kontrolle	1	1	100	0.010	0.018 $\pm$ 0.015 -
	2	6	100	0.010	
	3	12	100	0.020	
	4	4	100	0.030	
Ataxia teleang.	1	5	100	0.080	0.077 $\pm$ 0.025 -
	2	3	100	0.100	
	3	3	100	0.050	
Bloom - Sy.	1	4	100	0.080	0.098 $\pm$ 0.033 -
	2	7	100	0.120	
	3	3	100	0.130	
	4	5	100	0.060	
Fanconi - Anämie	1	12	100	0.040	0.163 $\pm$ 0.106 -
	2	7	100	0.270	
	3	12	100	0.230	
	4	6	100	0.110	

Tab. 1 : Spontane Aberrationsquote bei Ataxia - teleangiectasia, Fanconi - Anämie und Bloom - Syndrom (zit. n. HIGURASHI et al.)

Kürzlich konnten SASAKI et al. (1973) bei diesen Kranken eine auffällige Empfindlichkeit gegenüber der bruchinduzierenden Wirkung einiger chemischer Substanzen nachweisen; nach HIGURASHI et al. gilt dies auch für ionisierende Strahlen. (zur Wirkung von Adenoviren auf Fanconi - Anämie - Fibroblasten vergl. 3.1.3)

Ob diese starke " Empfindlichkeit " einerseits als Erklärung für die hohe spontane Aberrationsfrequenz gelten kann, andererseits mit der relativ häufigen Entwicklung von Leukämien und Tumoren des RES bei diesen Patienten zusammenhängt, ist bis heute noch unklar.

Die Wirkung von Ultraschall auf Chromosomen ist wegen der diagnostischen Anwendung, besonders in der Geburtshilfe mit Wirkung auf den Foeten, von Interesse. Die " in vivo " Analysen brachten überwiegend negative Ergebnisse, (zit. n. ROTT et al. 1973) und auch nach " in vitro " Beschallung menschlichen Blutes mit hohen Intensitäten konnte keine Chromosomenschädigung festgestellt werden. (KUNZE + MUHL et al. 1972)

2.3.2 durch ionisierende Strahlen

Aus der Vielzahl der Veröffentlichungen sei in diesem Rahmen nur auf die Arbeit von SCHMID und BAUCHINGER (1969) hingewiesen, die bei Frauen, die sich wegen eines Genitalkarzinoms einer kombinierten Radium - Röntgentherapie unterzogen hatten, sofort nach der Strahlenexposition in 34,9 % aller analysierten Zellen strukturelle Chromosomenaberrationen fanden. Innerhalb der ersten vier Jahre gingen die Schäden auf 25 % des Ausgangswerts, in den folgenden Jahren nur noch geringfügig zurück.

2.3.3 durch chemische Substanzen

Bis heute ist eine große Anzahl chemischer Agenzien bekannt geworden, die Chromosomenanomalien induzieren können. Es handelt sich in erster Linie um Stoffe, die in die DNS- und Proteinsynthese hemmend eingreifen. Dieser Effekt ist bekannt von den stickstoffhaltigen Basenanaloga wie 5 - Fluor - desoxyuridin (FUDR), Arabinosylcytosin (araC) (zit. n. NICHOLS 1969), Arabinosyladenin (araA) (NI-

CHOLS 1964 ^a) und von abnormen Mengen der physiologischen Desoxynucleoside Desoxyguanosin (SCHACHTSCHABEL 1970), Desoxyadenosin (NICHOLS 1969 ^b). Dieser Effekt kommt zustande durch eine indirekte Hemmung der DNS - Synthese. (vergl. 2.5.1)

Eine direkte Wirkung auf die DNS ist bekannt von dem Basen-analogum 5 - Bromdesoxyuridin (BUDR) (NICHOLS 1964 ^a) und den alkylierenden Substanzen wie Ehdoxan ^R, Myleran ^R und Trenimon ^R. (GEBHARD 1970, 1973, 1974)

Auch die in der Tumorthherapie verwendeten Antibiotika Mitomycin C, Aktinomycin D und Bleomycin (KRISHAN 1973) verursachen Chromosomenschäden über eine direkte Wirkung auf die DNS.

Ebenso können die körpereigenen Substanzen Adrenalin und Noradrenalin offensichtlich die chromosomale Struktur verändern. (WINTERHOFF 1967) HARTWICH (1972) konnte die chromosomenschädigende Wirkung des Benzols bei chronischer Exposition nachweisen.

Die Frage, ob Psychopharmaka wie die Halluzinogene LSD und Marihuana und die Neuroleptika (zit. n. NICHOLS 1967) eine Wirkung auf die menschlichen Chromosomen ausüben, kann noch nicht endgültig beantwortet werden. Was das LSD betrifft, so scheint es in reiner Form, für begrenzte Zeit, und in bestimmter Menge an gesunde Individuen verabreicht, zu keinem signifikanten Anstieg der Chromosomenaberrationen zu führen, obwohl Chromosomenanalysen bei Drogensüchtigen erhöhte Bruchquoten gezeigt hatten. (NICHOLS) Doch können bei dieser Personengruppe Unterernährung, häufige Virusinfektionen - besonders Virushepatitiden - mit eine Rolle bei der Bruchinduktion spielen.

2.3.4 durch Viren

2.3.4.1 Klassifikation der Viren nach MELNICK

Die oben geäußerte Feststellung leitet über zu der Gruppe von Agenzien, die in der vorliegenden Arbeit am meisten interessiert: die Viren. Es wird die Aufgabe des speziellen Teils dieser Übersicht sein, die Ergebnisse zahlreicher Untersuchungen zu diesem Thema gegenüberzustellen und zu diskutieren. Im folgenden soll nur zur besseren Anschaulichkeit und Übersichtlichkeit der Versuch einer Klassifikation wiedergegeben werden; das bis heute geltende Schema wurde 1965 von dem " Provisional Committee for Nomenclature of viruses " (P.C.N.V.) nach den Vorschlägen von LWOFF, HORNE und TOURNIER (1962) ausgearbeitet und später von MELNICK (1969) modifiziert. (vergl. STARKE 1972)

Als fundamentale Kriterien gelten dabei folgende:

- 1) Die chemische Natur der Nukleinsäure: ein- oder doppelsträngige DNS bzw. RNS
- 2) Die Symmetrie des Nukleokapsids: isometrisch, helical oder komplex
- 3) Das Vorhandensein bzw. das Fehlen einer Hülle: Sitz von Hämagglutininen und hämolysierenden Enzymen
- 4) Die Anzahl der kapsomeren, die als Baueinheiten des Kapsids den Durchmesser des Virions bestimmen

Unter Berücksichtigung dieser Kriterien wurden folgende Gruppen gebildet, wobei die Aufzählung der Untergruppen und der einzelnen Viren bei weitem nicht vollständig ist.

DNS - haltige Viren

PARVOVIREN

- 1) osteolytische Hamsterviren
- 2) Rattenviren
- 3) Adenosatelliten

PAPOVAVIREN (abgeleitet von Papilloma-, Polyoma- und Simian Vacuolating 40 Virus)

- 1) Papilloma - Virus (Kaninchen, Hund, Rind, Mensch)
- 2) Polyoma - Virus (Maus)
- 3) SV 40 - Virus (Rhesusaffe)

ADENOVIREN

- 1) menschliche
- 2) tierische

HERPESVIREN

- 1a) Herpes simplex - Virus oralis et genitalis (Mensch)
- b) Herpes simplex - Virus (Tier)
- 2a) Herpes Zoster - Varizellen Virus (Mensch)
- b) Virus der Marek'schen Krankheit (Huhn)
- c) Zytomegalievirus (Mensch)
- 3a) Burkitt - Lymphoma - Virus $\hat{=}$ Epstein - Barr - Virus (Mensch)
- b) Lucké - Virus (Frosch)

POCKENVIREN

- 1) Menschenpockenvirus (Variola major)
- 2) Alastrim-virus (Variola minor)
- 3) Vacciniavirus
- 4) Kuhpockenvirus

RNS - haltige Viren

PICORNAVIREN

- 1) Enteroviren
 - a) Poliomyelitisviren Typ 1, 2, 3 (Mensch)
 - b) Teschenvirus (Schwein)
 - c) Theilervirus (Maus)

- c) Friend - Virus
- d) Rauscher - Virus
- 3) Mammarkarzinomvirus der Maus

AREN OVIREN

Als Arenoviren bezeichnet MELNICK eine Gruppe von Arboviren mit einer lipidhaltigen Hülle und einem durchschnittlichen Durchmesser von 110 nm.

TOGAVIREN

Nach MELNICK (1970, zit. n. STARKE) sollen in dieser Gruppe die meisten Arboviren der Gruppen A und B sowie das Rötelnvirus zusammengefaßt werden, dessen Morphologie und Nukleinsäurentyp zunächst eine Gruppierung in der Nähe der Myxoviren rechtfertigten.

CORONAVIREN

- 1) menschliche Coronaviren
- 2) tierische Coronaviren

NICHT KLASSIFIZIERBARE VIREN

- 1) Virus der infektiösen Hepatitis (Typ A)
- 2) Virus der Serumhepatitis (Typ B)
- 3) " Candidate hepatite " Viren: AR 17

SanCados virus 3

ANHANG

- 1) Mykoplasmen
- 2) Rickettsien

2.3.4.2 weitere Möglichkeiten der Klassifizierung

Bei der Einteilung der Viren können auch Gesichtspunkte wie bevorzugter Wirtsorganismus und bevorzugt befallene Organe berücksichtigt werden. So gibt es zum Beispiel neuro-, derma-, enterotrope Viren. Daneben kann man auch eine Trennung in onkogene, das heißt " in vitro " zu einer Zelltransformation führende Viren und solche mit nur cytopathischem Effekt vornehmen.

2.3.4.3.1 Begriff des cytopathischen Effekts

Der cytopathische Effekt, den die meisten Viren verursachen, umfaßt Vorgänge wie Syncytienbildung, Hämolyse und Zelltod infolge der Hemmung der zellulären Proteinsynthese.

2.3.4.3.2 Begriff der Zelltransformation

Charakteristische Merkmale einer " in vitro " stattgefundenen Transformation sind morphologische Zellveränderungen, Verlust der Kontakthemmung, wodurch mehrschichtige Kulturen gebildet werden, erhöhte Mitoserate, Veränderungen im Stoffwechsel, neue antigene Eigenschaften, Chromosomenaberrationen, Klonbereitschaft, das heißt, daß die Möglichkeit zur Weiterführung etablierter Zellstämme in fortlaufenden Passagen besteht, und die Fähigkeit zur Tumorentstehung in vivo. (vergl. STARKE) Prototyp onkogener Viren sind die DNS - haltigen Papovaviren, daneben einige Adenoviren (Typ 12, 18, 31) und Herpesviren. Die Leukoviren sind onkogene RNA - Viren.

Über die Bedeutung der Chromosomenaberrationen im Zuge der malignen Transformation besteht im einzelnen noch keine Klarheit. (vergl. 4.2)

2.4 Typen von virus - induzierten Chromosomenbrüchen
Chromosomenanomalien können grundsätzlich in numerische und strukturelle Aberrationen unterteilt werden; letztere bestehen aus einfachen Deletionen oder aus Strukturumbauten.

2.4.1 numerische Aberrationen

Aneuploidie, das heißt Abweichungen von der modalen Zahl nach unten oder oben, werden als hypo- bzw. hyperdiploid bezeichnet. Zellen mit 45 Chromosomen können sowohl in Kontrollkulturen als auch in den virus - infizierten Kulturen relativ häufig beobachtet werden und sind wohl meistens als Artefakt der Präparationstechnik anzusehen. Zellen mit 47 und mehr Chromosomen und auch polyploide Zellen, in denen die diploide Chromosomenzahl um einen oder mehrere Chromosomensätze erhöht ist, können durch Viruseinwirkung entstehen. So konnte HENEEN 1965 (zit. n. NICHOLS) 1973 , zeigen, daß eine Virusinfektion zu einer Persistenz der Nukleoli während der Mitose führen kann. Die Bedeutung dieser Tatsache liegt darin, daß der Nukleolus in spezifischen Chromosomengebieten, den Nukleolusorganisatoren, gebildet wird und, daß er, wenn er persistiert, die beiden Chromatiden zusammenhält und damit die Trennung während der Anaphase erschwert. Als Folge davon kann es zur " non - disjunction " und damit zur Monosomie bzw. Trisomie kommen.

Als Entstehungsmechanismus für polyploide Zellen kommen Spindelstörungen in virus - induzierten Syncytien in Frage, in denen einige Kerne einen gewissen mitotischen Synchronismus aufweisen. Während der Metaphase teilen sich die Chromosomen aus den verschiedenen Kernen gemeinsame Spindeln, so daß während der Anaphase Chromosomen aus mehreren Metaphaseplatten zu ein und demselben Pol wandern und neue Chromosomengruppierungen bilden. (NICHOLS 1973)

2.4.2 strukturelle Aberrationen

Als virus - spezifische Veränderungen gelten Gaps und offene Brüche. Beide können vom chromatidalen Typ, wenn nur eine Chromatide betroffen ist, oder vom chromosomalen Typ sein, wenn beide Chromatiden betroffen sind. (vergl. BLOOM 1972)

Welcher Aberrationstyp induziert wird, ist abhängig von der Phase des Zellzyklus, in der der Schaden gesetzt wird. Ein Einwirken in der G_1 - Phase, also bevor die DNS - Replikation in der S - Phase stattfindet, hat einen Chromosomenbruch zur Folge; wenn dagegen der Schaden erst in der späten S - oder G_2 - Phase geschieht, ist meistens nur eine der beiden Chromatiden betroffen und es entsteht ein Chromosomenbruch. Beide Chromatiden sind bei einem Isochromatidenbruch betroffen, der sich morphologisch nicht von einem Chromosomenbruch unterscheidet. (NICHOLS 1970^a)

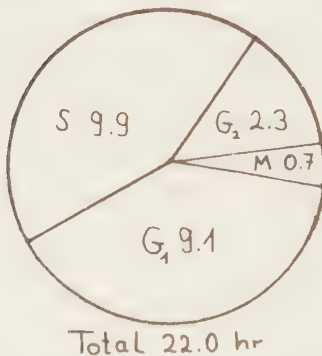


Fig. 1

Durchschnittliche Dauer der einzelnen Stadien des Zellzyklus in den meisten Säugerzellen (nach BLOOM 1972)

Ein Schaden, der in der frühen Prophase der Mitose entsteht, hat einen Subchromatidenbruch zur Folge, der sich in Anaphasepräparationen als " pseudochiasmata " oder " side arm bridges " darstellt. (BLOOM 1972, NICHOLS 1973)

Ein Gap ist Definitionsgemäß eine färberische Lücke (lokale Achromasie) im Chromosom bzw. in einer Chromatide,

die optisch zu einem Substanzverlust ohne Verlust der Kontinuität der Chromatidstruktur führt. (zit. n. GEBHART 1971) Brüche dagegen stellen echte Diskontinuitäten mit Dislokation des abgebrochenen Stückes dar. Die häufig mit " erosion ", " constriction " beschriebenen Defekte sind minimale Gaps, bei denen noch ^{eine} chromatische Verbindungsbrücke besteht. Sie dürfen nicht mit den physiologischen Einschnürungen verwechselt werden. (vergl. WEIDERT) Der Begriff des " delayed isolocus break " wurde von ÖSTERGREN und WAKONING (1954, zit. n. NICHOLS 1970) geschaffen und beschreibt im typischen Fall eine sekundäre Konstriktion auf einer Chromatide mit einem korrespondierenden Bruch auf der anderen Chromatide. Es können aber alle Übergänge von einer sekundären Einschnürung, einem Gap bis zum eindeutigen Bruch gemeint sein.

Während der Metaphase ist es häufig schwierig, zwischen Gaps und echten Brüchen zu unterscheiden. Hier helfen dann Anaphasepräparationen weiter: handelt es sich um einen echten Bruch, so liegt das dislozierte, acentrische Fragment zwischen den beiden Chromosomengruppen, die an den Polen liegen, während ein Gap entweder gar nicht erkannt werden kann oder als " attached fragment " in nur geringem Abstand von den anderen Chromosomen liegt, (NICHOLS 1973)

Offene Chromosomenbrüche können zu vielfältigen Strukturumbauten (" rearrangements ") wie Ringen, di- oder multicentrischen Chromosomen und Translokationsfiguren führen. Dieser Vorgang benötigt allerdings eine ungestörte DNS- und Proteinsynthese und wird nur beobachtet, wenn die Zelle diese Fähigkeit wiedergewinnt, also nach der akuten Phase der Infektion. (NICHOLS 1970)

In Anaphasepräparationen stellen sich dicentrische Chromosomen als " chromosome bridges " dar.

Zu den virusspezifischen Chromosomenanomalien gehört auch die erstmals von NICHOLS (1964 ^b) beschriebene P U L V E - R I S A T I O N. Sie wird vorwiegend " in vitro " in vielkernigen Syncytien nach Einwirkung von Paramyxoviren, Herpesviren und Adenoviren beobachtet, (O' NEILL, MILES 1970, NICHOLS et al. 1967, STENMAN et al. 1969) aber auch "in vivo" und in einzelnen diploiden Zellen. (STENMAN 1969)

NORRBY et al. (1966) sahen einen Zusammenhang zwischen der Fähigkeit zur Syncytienbildung und zur Chromosomenpulverisation auf der einen Seite und der hämolytischen Aktivität einiger Paramyxoviren auf der anderen Seite. HOWE et al. (1969) und APOSTOLCV et al. (1972) machten auf die Ähnlichkeiten bei der Lyse von Erythrozyten und bei der Zellfusion durch Paramyxoviren aufmerksam. HENEEN et al. (1970) betrachteten die Mitosefiguren in virus- induzierten vielkernigen Syncytien. Die unbeschädigten Kerne innerhalb eines Syncytiums zeigten vielfach einen gewissen Grad mitotischen Synchronismus, der zu komplexen Spindelkonfigurationen Anlaß gab. Die Äquatorialplatten waren häufig tripolar, quadripolar oder " star - shaped ", die anderen Kerne oft pulverisiert (bis zu 96 %).

Ursprünglich glaubte man, daß das pulverisierte Chromatin despiralisierte und fragmentierte Metaphasechromosomen darstelle. Erst die Versuche von NICHOLS (1967) mit markiertem Thymidin (H^3 TdR) und Sendai - Virus brachten den Nachweis, daß es sich bei dem pulverisierten Material um Metaphasekerne während der DNS - Synthese (S - Phase) mit stark spiralsierten Chromosomen handelt. Dazu wurde 15 min. vor der Fixation zu den mit Sendai - Virus infizierten Zellen H^3 TdR gegeben. Radioautographisch zeigten sich viele markierte Partikel über dem gesamten pulverisierten Material, während die intakten Chromosomen nicht markiert waren;

das bedeutet, daß die Chromosomen während der S - Phase das markierte Thymidin aufgenommen haben und wegen der kurzen Einwirkungsdauer keine Gelegenheit mehr hatten, die Prophase der Metaphase zu erreichen. STENMAN et al. (1969) beobachteten auch in normalen, diploiden Kernen einzelner Zellen gelegentlich eine Pulverisation eines Teils der Chromosomen, während andere intakt blieben. TAKAGI et al. (1969), O' NEILL et al. (1970) und SANDBERG et al. (1970) stellten im Gegensatz zu NICHOLS fest, daß Zellen in jeder Phase des Zellzyklus pulverisiert werden können, wenn sie mit mindestens einer Zelle, die sich in der Metaphase befindet, verschmolzen ist.

Die Arbeit von JOHNSON und RAO (1970) brachte noch mehr Klarheit in den Vorgang, den die Autoren " premature chromosome condensation " (PCC) nannten; offensichtlich ist die Anwesenheit wenigstens eines Mitosekernes und eines Interphasenkernes im Zytoplasma derselben Zelle für die " Pulverisierung " im Interphasenkern verantwortlich. MATSUI et al. (1971) postulierten einen Faktor im Mitosekern, " pulverisation factor " (PF), ein Protein, das in den letzten 15 - 45 min. der G_2 - Phase gebildet wird und auf die asynchronen Interphasenkerne dahingehend wirkt, daß sie sich vorzeitig verdichten und spiralisieren für die Metaphase, unabhängig davon, ob sie sich in der G_1 , S oder G_2 - Phase befinden.

Dieser Zeitpunkt bestimmt nur das morphologische Erscheinungsbild der " PCC ". So wird die PCC eines S + Phasenkernes zum Bild der ~~typischen~~ klassischen Pulverisation (nach NICHOLS) führen, während nach PCC in der G_1 oder G_2 - Phase das Chromatin dem normalen Prophase - Chromatin gleicht. (STENMAN 1971, zit. n. AULA 1973) SANDBERG et al. (1970) unterschieden acht verschiedene morphologische Pulverisationstypen.

Die " Pulverisation " einzelner Chromosomen innerhalb einer diploiden Zelle könnte nach dem selben Mechanismus wie in einem vielkernigen Syncytium ablaufen. STENMAN et al. erklären den Vorgang damit, daß die Viruseinwirkung bei einigen Chromosomen zu einer Verzögerung der DNS - Synthese führen würde und es dadurch ebenfalls zu einem Nebeneinander von Metaphase- und Interphasechromosomen käme.

Zu dieser Vorstellung passt, daß das sich spät teilende Y - Chromosom häufig von der " PCC " betroffen wird.

2.4.2.1 Klassifikation nach BAUCHINGER und HUG

Bauchinger und HUG (1966) haben ein rein auf den oben beschriebenen sichtbaren morphologischen Veränderungen beruhendes Klassifikationsschema angegeben, daß vier verschiedene Zellklassen vorsieht:

1) N - Zellen sind Zellen mit normalem Chromosomenmuster, ohne strukturelle Defekte, modal ($n = 46$) oder auch nicht modal ($n = 46 \pm 2$).

2) S - Zellen sind Zellen mit strukturellen Defekten, dabei zwei Grundtypen:

S_1 - Typ: reine Bruchstückverluste, ohne Strukturumbauten (Chromatiden-, Chromosomenbrüche, acentrische Fragmente, " minutes ", und " double - minutes ", womit FEULGEN -positive, punkt- oder doppelpunktförmige Gebilde ohne Centromer bezeichnet werden, die in der Regel kleiner sind als der Chromatiddurchmesser.) .

S_2 - Typ: inter- und intrachromosomale Strukturumbauten (Ringe, multicentrische Chromosomen, Translokationen).

3) U - Zellen sind Zellen mit unspezifischen Chromosomenaberrationen ($U_a \hat{=}$ " constrictions ", " erosions ", $U_b \hat{=}$ Gaps).

4) D - Zellen sind Zellen mit diffusen Chromosomenaberrationen (Pulverisation, " PCC ").

2.5 Theorien zur Bruchentstehung

Die Frage nach dem Entstehungsmechanismus der Chromosomenbrüche kann bis zum heutigen Zeitpunkt nicht definitiv beantwortet werden. Mehrere Theorien werden diskutiert, die sich aus Einzelbeobachtungen ableiten, doch ist keine davon gesichert; am wahrscheinlichsten ist es nach den bisherigen Erkenntnissen, daß mehrere Möglichkeiten der Bruchentstehung existieren. (NICHOLS 1969^a)

2.5.1 indirekte Wirkung auf den DNS - Stoffwechsel

Die noch am besten fundierte Theorie beruht auf der Beobachtung, daß der Mangel an DNS - Vorstufen, an Desoxyribosiden, für das Auftreten von Brüchen verantwortlich sein kann. Diesen Effekt haben die in 2.3.3 erwähnten Basenanaloga: das Angebot falscher Grundstoffe blockiert die Bildung einiger DNS - Vorstufen und damit indirekt die DNS - Synthese. (zit. n. WEIDERT 1969)

NICHOLS (1969^{a,b}, 1970^c) und SCHACHTSCHABEL (1970) sehen in der Tatsache, daß durch reichliche Zufuhr normaler Riboside die bruch - induzierende Wirkung verhindert wird, einen Beweis für die Annahme, daß die Hemmung der DNS - Synthese die Ursache für die Chromosomenbrüche ist.

Auf Grund der ausgesprochenen Ähnlichkeit in der Morphologie und in der Lokalisation zwischen diesen und den virus - induzierten Brüchen und der synergistischen Wirkung (vergl. unten), ist es naheliegend, diesen Mechanismus auch für die Viren anzunehmen, mit dem Unterschied, daß die Viren nicht die Synthese der DNS - Vorstufen blockieren, sondern vielmehr diese zum Aufbau ihrer eigenen Nukleinsäure in Anspruch nehmen.

AHNSTRÖM et al. (1965, zit. n. GRAF 1970) postulierten, daß die Verarmung an DNS - Vorstufen die DNS - Polymerase - entsprechend dem Massenwirkungsgesetz - veranlasse, aus

schon gebildeter Chromosomen - DNS Nukleotide herauszulösen, was eine Instabilität der Chromosomen zur Folge hätte. Zwei Gesichtspunkte sprechen gegen diese Theorie: einmal müßte, ebenso wie bei den Basenanaloga, die Zugabe von Ribosiden die Häufigkeit von virus - induzierten Brüchen senken, NICHOLS (1969) konnte diesen Effekt zum mindesten für RNS - Viren nicht bestätigen. Zum anderen müßte man für die Metabolitenverarmung eine Replikation der Viren fordern, die jedoch für die Induktion von Chromosomenbrüchen offenbar nicht notwendig ist. BARTSCH et al. (1969^b) hemmten den Replikationszyklus von Polioviren mit Guanidin auf der Stufe der RNS - Synthese (vergl. 3.2.1.1). Dabei beobachteten diese Autoren Chromosomenbrüche in gleicher Häufigkeit wie ohne Zusatz von Guanidin.

Versuche von O' NEILL et al. (1971) mit Herpes simplex - Virus und Arabinosylcytosin (araC), von dem man weiß, daß es die virale DNS zu 99,9 % hemmt, bestätigten, daß auch DNS - Viren ohne Replikation ihrer Nukleinsäure Chromosomenschäden verursachen können. Es kam im Gegenteil zu einem synergistischen Effekt von HSV - Typ 2 und araC, den schon NICHOLS bei gleichzeitigem Einwirken von Rous - Sarkom - Virus und Cytidinphosphat auf Leukozyten beobachtet hatte (zit. n. GRAF). Eine Erklärung für dieses Phänomen gibt es bis heute nicht.

Versuche mit Interferon und Adenoviren (NICHOLS 1972), bzw. HSV - Typ 2 (O' NEILL et al. 1971) dagegen zeigten, daß Interferon den bruchinduzierenden Effekt dieser Viren verhindern kann. Von Interferon glaubt man, daß seine " Anti - Virus " - Wirkung auf der Verhinderung der Translation der viralen m - RNS beruht.

Diese Ergebnisse sind ein Hinweis dafür, daß die chromosomenschädigende Wirkung wenn nicht aller, so doch bestimmter Viren in den frühen Phasen des Replikationszyklus nach dem " uncoating ", aber vor der Nukleinsäuresynthese, einsetzt. (O' NEILL et al. 1971)

2.5.2 Wirkung über Enzyme

2.5.2.1 zelluläre DNasen

Diese Beobachtungen unterstützen auch die Hypothese, die erstmals von ZUR HAUSEN geäußert wurde, daß nämlich frühe, durch das Virusgenom codierte Enzyme, im speziellen zelluläre Desoxyribonucleasen, für die Chromosomendefekte verantwortlich sein könnten. (DONNER et al. 1971) Einen Anstieg der Desoxyribonucleaseaktivitäten hatten RUSSEL et al. (1969, zit. n. DONNER) in Zellkulturen beobachtet, die mit Herpes - simplex - Virus infiziert worden waren. JUNGWIRTH et al. (1965, zit. n. DONNER) fanden erhöhte Aktivitäten nach Vaccinia - Virus Infektion.

2.5.2.2 lysosomale DNasen

ALLISON und PATTON (1965, zit. n. NICHOLS 1970) vermuteten ebenfalls eine Enzymwirkung, da sie beobachtet hatten, daß in menschlichen Fibroblastenkulturen nach Behandlung mit Vitalfarbstoffen (z. B. Neutralrot) Chromosomenbrüche gehäuft auftraten. Die Farbstoffe werden an der Lysosomenmembran gebunden, sensibilisieren diese, so daß nach Lichtexposition die Membranen zerstört und saure Phosphatasen freigesetzt werden. Da offensichtlich lysosomale Enzyme, die durch eine Fusion² zwischen Virion und Lysosomen freigesetzt werden, für das " uncoating " verantwortlich sein können, wäre es denkbar, daß diese Enzyme, im speziellen DNasen, anschließend die Chromosomen schädigen. (ALLISON 1966, zit. n. O' NEILL et al. 1971)

Versuche von AULA und NICHOLS (1968) zeigten allerdings, daß diese Hypothese den Entstehungsmechanismus der virus - induzierten Brüche nicht erklären kann. Adenoviren Typ 12 und Masernviren erzeugten Brüche, bzw. Pulverisation, ohne die Lysosomen zu zerstören, währenddessen Polioviren Typ III

die Lysosomenmembran auflösen, ohne eine Wirkung auf die Chromosomen erkennen zu lassen. Als Indikator für eine stattgefundene Chromosomenzerstörung galt ein Anstieg der sauren Phosphatasen. Der Membranstabilisator Cortison zeigte keinen Einfluß auf die Brucherzeugung. BARTSCH et al. (1969) beobachtete zwar einen Anstieg der Bruchquote nach Infektion mit Poliovirus Typ 1, bestätigten aber, daß die früh im Replikationszyklus der Viren auftretenden Chromosomenbrüche unabhängig von der Aktivität lysosomaler Enzyme sein müssen, denn diese steigt erst in späteren Replikationsphasen an (vergl. 3.2.1.1)

Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu ALLISON's Vermutung, daß diese Enzyme für das " uncoating " verantwortlich sind. Ob eine Beziehung zwischen dem Freiwerden lysosomaler Enzyme und dem Auftreten diffuser Chromosomenanomalien (BARTSCH et al. 1969) in den späten Phasen des Replikationszyklus besteht, ist noch nicht entschieden. BARTSCH et al. konnten durch experimentelles Hinzufügen lysosomaler Enzyme aus dem Zytoplasma infizierter Zellen zu menschlichen Metaphasechromosomen keine Veränderungen induzieren, auch wenn Konzentrate mit sehr hohen Enzymaktivitäten verwendet wurden.

2.5.3 direkte Wirkung auf die DNS

Als weitere Möglichkeit käme ein direkter Angriff auf die chromosomale DNS in Frage, der zu instabilen Gen - Loci führen würde, gemäß der Theorie von ÖSTERGREN und WAKONING. (zit. n. NICHOLS 1970^a). In den darauffolgenden Mitosen würden die Chromosomen an diesen Stellen brechen; daß dieser Weg offenbar möglich ist, zeigten Untersuchungen mit 5 - Bromdesoxyuridin (BUDR), das anstelle von Thymin in die DNS inkorporiert wird. (ESU 1961, zit. n. NICHOLS (1964^a). Zahlreiche Versuche wurden unternommen, den direkten Einbau von viraler DNS in die zelluläre DNS nachzuweisen.

RAPP und HSU (1965, zit. n. NICHOLS 1970^a), die mit radioaktiv markierten Herpes simplex - Viren arbeiteten, fanden virale Nukleinsäure im Kern, aber nicht in den Chromosomen. ZUR HAUSEN (1965, zit. n. NICHOLS 1970^a) und NICHOLS et al. (1968) beobachteten in ihren Untersuchungen mit radioaktiven Adenoviren Typ 12 in Interphasezellen markierte Stellen sowohl im Kern, als auch im Zytoplasma. In den Metaphasezellen konnte die Aktivität auf den Chromosomen nachgewiesen werden, die Verteilung der markierten Partikel war jedoch zufällig: sowohl in Zellen mit unversehrten, als auch in solchen mit beschädigten Chromosomen, und dann nicht an der Stelle des Bruches. SAMBROOK et al. (1968, zit. n. NICHOLS 1970^a) gelang es, für die SV 40 - Virus - DNS eine kovalente Bindung mit der zellulären DNS nachzuweisen.

2.5.4 direkte Wirkung auf die Chromosomenmatrix

Außer einer direkten Wirkung auf die DNS, kann man sich auch eine solche auf das Histon, ~~auf~~ die Proteinkomponente der Chromosomen, vorstellen, was eine Instabilität der Chromosomen zur Folge hätte. Diese Vorstellung entwickelten AULA und NICHOLS (1967) auf Grund der Beobachtung, daß Mykoplasmen, die ein Arginin - abbauendes Enzym besitzen, Chromosomenschäden verursachen, die den durch Viren induzierten sehr ähnlich sind (vergl. spez. Teil). Dieser Effekt konnte einerseits durch Zugabe von Arginin zum Nährmedium verhindert werden, andererseits auch durch Argininmangel allein ausgelöst werden. Da nun Arginin einer der Hauptbestandteile des Histons ist, war es naheliegend, eine Störung der Histonsynthese als Ursache für die Chromosomenbrüche anzusehen.

FREED et al. (1969) lieferten allerdings den Nachweis, daß ein Mangel an jeder beliebigen essentiellen Aminosäure im Kulturmedium, über eine Hemmung der zellulären DNS - Synthese, einen starken Anstieg der Chromosomenanomalien bewirkt.

Da auch Mykoplasmen die nicht zu einem Argininmangel führen, Brüche erzeugen können (vergl. Anhang spez. Teil, KUNDSIN 1971), kann auch die Theorie, die den Bruchmechanismus über eine Störung der Histonsynthese vermutet, nicht den Anspruch der Allgemeingültigkeit erheben.

2.5.5 weitere Möglichkeiten

Es wäre auch denkbar, daß die Chromosomenschäden mit der Produktion von Antikörpern zusammenhängen. Nach FIALKOW (1966, 1967, zit. n. EMERIT et al. 1972^a) können Autoimmunprozesse Chromosomenbrüche hervorrufen. So werden Autoimmunkrankheiten häufig von Chromosomenanomalien begleitet. BALDAUF et al. (1971) wiesen den Einfluß des Immunstatus auf die Stärke der Chromosomenschädigung durch Vaccinia - Virus " in vivo " nach (vergl. spez. Teil).

3. S P E Z I E L L E R T E I L

Bei der nun folgenden Betrachtung speziell der Viren, die in den Jahren 1963 - 1973 hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur Chromosomenschädigung untersucht wurden, werde ich der angegebenen Klassifikation nach MELNICK folgen.

3.1 DNS - Viren

3.1.1 Parvoviren

Die Vertreter dieser Virusgruppe sind wahrscheinlich latente Kontaminanten von Ratten, bei denen sie eine übertragbare Leukämie und eine Hepatitis verursachen können. Typ 3 und 4 der Adenosatelliten können symptomlose Infektionen beim Menschen auslösen. Über Wirkungen auf die Chromosomen ist nichts bekannt.

3.1.2 Papovaviren

Diese Gruppe von Viren stellt den Prototyp onkogener, d. h. morphologisch transformierender, Viren dar.

3.1.2.1 SV 40 - Virus

Aus dieser Gruppe wurde das SV 40 - Virus bisher am eingehendsten untersucht. BOUE et al. (1970) berichteten, daß menschliche diploide Zellen nach Infektion mit SV 40 - Virus während mehrerer Wochen sowohl in Bezug auf morphologische , als auch auf chromosomale Veränderungen intakt bleiben. Dann tritt morphologische Transformation auf, und beinahe gleichzeitig werden Chromosomenaberrationen sichtbar (vergl. Tabelle 2). Nach drei Wochen ist die Anzahl der tetraploiden Metaphasen ($\hat{=}$ $4n$) auf fast 50 % angestiegen. Mit einer gewissen Regelmäßigkeit wird der Verlust eines Chromosomes der Gruppen G oder D mit daraus resul-

tierender Monosomie gefunden, so daß die Chromosomenzahl häufig zwischen Triploidie und Tetraploidie liegt (Hypotetraploidie).

In der Folge gehen die meisten Transformierten Zellen zugrunde. Mit sehr großer Sorgfalt ist es gelegentlich möglich, etablierte Zellstämme, bestehend aus Zellen mit dem veränderten Genom, über mehrere Passagen weiterzuführen. Die transformierten Zellen enthalten kein nachweisbares Virus mehr: die Zahl produzierter Viruspartikel nimmt schlagartig ab, wenn die ersten Anzeichen einer Transformation sichtbar werden. (BOUE et al. 1970)

FOGH et al. (1970) beobachteten zum einen " in vitro " die Wirkung von SV 40 - Virus alleine auf menschliche Amnionzellen, zum anderen die einer konkurrierenden SV - 40 - Mykoplasmen Infektion auf Amnionzellen (vergl. 3.2.12). Übereinstimmend mit BOUE et al. fanden diese Autoren nach SV 40 - Virus Infektion zu Beginn noch diploide Zellen. Nach einigen Passagen wechselt die Chromosomenzahl zur Hypotetraploidie über. (bis zu maximal 80 % aller Metaphasen). Die Häufigkeit der strukturellen Aberrationen nahm mit der Dauer der Kultivierungszeit zu (vergl. Tab. 2). Auffallend war das zahlreiche Vorkommen von " minutes " und " double - minutes ".

Nach einer konkurrierenden SV 40 - Mykoplasmen-Infektion änderte sich das Bild: die Chromosomenzahl blieb länger diploid und die meisten strukturellen Aberrationen traten in geringerer Anzahl auf. Dieser Zustand hielt auch nach der Entfernung der Mykoplasmen an. FOGH et al. erklärten sich dieses Phänomen mit der im Vergleich zu diploiden Zellen größeren Empfindlichkeit tetraploider, bzw. hypotetraploider Zellen gegenüber dem schädigenden Effekt der Mykoplasmen auf die Chromosomen.

PRUNIERAS et al. (1970) und NACHTIGALL et al. (1971)

SV 40-Virus =====	Zellsystem	morphol. Transform.	Brüche, Gaps	di-, poly- centr. Chr.	minutes	numerische Aberrationen
BOUÉ (1970)	in vitro menschliche diploide Zellen	+	+	+	?	Tetraploidie Hypotetra- ploidie Trisomien C Monosomien G+D
FOGH (1970)	in vitro menschliche Amnion- zellen	+	+	++ (65 %)	++ (16 %)	Hypotetra- ploidie (bis zu 80 % aller Meta- phasen)
PRUNTERAS (1970)	in vitro Hamsterzellen	+	++	++	+	Hypotetra- ploidie (60 % der Metaph.)
NACHTIGAL (1971) =====	in vitro Hamsterzellen	+	+	+	++ (30 %)	+
Papovoma-Virus =====	in vitro Hamsterzellen	+	+	+	ø	Tetraploidie Trisomien Monosomien
DEFENDI (1965)	in vitro Hamsterzellen	+	+	+	?	Trisomien C Monosomien A + B
SHEVLIAGHYN (1970)	in vitro menschl. embryon. Fibroblasten	+	?	(inaktiv, Sendai-Vir. als "co-fact.") =====		

Tab. 2

Strukturelle und numerische Chromosomenanomalien,
induziert durch Papovaviren "in vitro"

kamen bei ihren Versuchen, bei denen sie Hamsterzellen " in vitro " mit SV 40 - Virus infizierten, zu ähnlichen Ergebnissen. Neben dem gehäuften Auftreten von Brüchen und Translokationen fiel auch diesen Autoren der große Prozentsatz von Zellen mit " double - minutes " (30 % nach NACHTIGAL) und eine Hypotetraploidie auf (60 % aller Metaphasen nach PRUNIERAS, s. Tab. 2).

3.1.2.2 Polyoma - Virus

Das Polyoma - Virus ist weit weniger gut untersucht als das SV 40 - Virus, offenbar verhält es sich aber ähnlich. PRUNIERAS et al. (1970) zitiert DEFENDI et al. (1965), die embryonale Hamsterzellen mit Polyoma - Virus **transfer-**
mierten und dabei, übereinstimmend mit MAC PHERSON (1963, zit. n. PRUNIERAS), nur niedrige Quoten struktureller Anomalien beobachteten (vergl. Tab. 2). Trisomien und Monosomien waren dagegen häufig und nach einiger Zeit vermehrte sich die Anzahl tetraploider Zellen. Von den Veränderungen waren die Chromosomenpaare gleich häufig betroffen, die Verteilung war also zufällig.

SHEVLIAGYN et al. (1970) unternahmen den Versuch, menschliche, embryonale Fibroblasten, die eine natürliche Resistenz gegenüber Polyoma - Virus aufweisen, mit Hilfe von inaktiviertem Sendai - Virus als " co - oncogenic factor " zu transformieren. Drei Wochen nach dieser Behandlung bildete sich tatsächlich ein etablierter Zellstamm aus transformierten Zellen, neben teilweiser Degeneration der Kulturen. In den Kontrollkulturen ohne Sendai - Virus zeigten sich keine Anzeichen einer Transformation. Die Chromosomenzahl war in den Gruppen A und B vermindert, in C vermehrt. In das Gehirn von Goldhamstern injiziert, lösten die transformierten Zellen innerhalb von drei Wochen Tumoren aus.

Die Funktion des Sendai - Virus ist wahrscheinlich vielfältig. Sicher spielt die Fusion von Zellen mit dem damit verbundenen gewaltsamen Einschluß von Viruspartikeln eine Rolle, vielleicht auch eine Zunahme der Zellmembranpermeabilität.

Aus dieser Beobachtung läßt sich die Vermutung ableiten, daß unter bestimmten Umständen ursprünglich nicht karzinogene Stoffe in Verbindung mit anderen Faktoren eine maligne Entartung verursachen können.

3.1.2.3 Shope - papilloma - Virus

Das Shope - papilloma - Virus ist der Erreger benigner Papillome beim Kaninchen, aus denen Karzinome entstehen können. Dabei besitzen die karzinomatös entarteten Tumoren eine heteroploide Chromosomenzahl, die benignen sind diploid (zit. n. PRUNIERAS 1970).

3.1.3 Adenoviren

Die Gruppe der Adenoviren kann man in onkogene und nicht onkogene Viren einteilen. Zu den ersteren gehören die Typen 12, 18 und 31, die bei Ratten, Hamstern und Mäusen Tumoren erzeugen. Zu den letzteren gehören die humanen Typen 1 - 8, 14 und 21.

COOPER et al. (1968, zit. n. STICH et al. 1971) stellten fest, daß Typ 18 in Hamsterzellen, in denen keine Vermehrung stattfindet, Chromosomenaberrationen induziert. Dagegen beobachteten MAC KINNON et al. (1967, zit. n. STICH et al. 1971), daß Adenoviren in menschlichen Amnionzellen, in denen sie sich vermehren können, keine Anomalien verursachen; wahrscheinlich sind Brüche vorhanden, ohne jedoch wegen der Mitosehemmung in der Gastzelle erkennbar zu sein. STICH et al. (1972) wiesen einen additiven Effekt des Adenovirus Typ 12 und einer alkylierenden Substanz (4 NQO)

ADENO-Viren Stamm	Zellsystem	Typ	Zeit nach Infektion	Zellen mit Aberr. (%)	Anomalietyp	Kontrollwert %
STICH (1972)	<u>in vitro</u> Hamster- zellen	12	1 Std. 6 Std.	37 32	Gaps, Brüche, weni- ge Translokationen	1,4
NICHOLS (1971) a)	<u>in vitro</u> menschl. Epithel- zellen	5	2 Std. 6 Std. 24 Std.	74 66 CPE 1), keine Mitose	Anaphasepräparatio- nen: acentrische Fragm., Brücken, Pseudochiasmen, multipl. Metaph.	2,0 8,8 10,0
b)	<u>in vitro</u> menschl. Fibroblasten	5	2 Std. 6 Std. 24 Std.	12 16 28	dgl.	- 16 14
ZATSEPIN (1970)	<u>in vitro</u> menschl. Fibroblasten	12 4,6	3-4 Std.	16,8 ± 1,3 11,2 ± 1,2	Brüche, Endo- reduplikationen	3,7 ± 0,5
MAC DOUGALL (1971) a)	<u>in vitro</u> menschl. Epithel- zellen	2 7 12 18 31	24 Std. " " "	48 46 56 39 45	Chromatid- und Iso- chromatidgaps und -Brüche	5,0
b)	<u>in vitro</u> Fibroblasten von Patien- ten mit FANCONI-A.	12	24 Std.	83 (1,35) 2)	dgl.	<u>vor Infekt.:</u> 62 (0,275) 2)

Tab. 3 Chromosomenaberrationen, induziert durch Adenoviren "in vitro"

- 1) CPE = cytopathischer Effekt
2) Anzahl von Anomalien pro Zelle

auf Hamsterzellen nach. Nach Einwirkung von AD 12 auf die Hamsterzellen traten Chromosomenaberrationen in 37 % der Metaphasen auf, nach Einwirkung von 4 NQO in 20 % der Metaphasen (vergl. Tab. 3). Die kombinierte Anwendung von AD 12 und 4 NQO ergab eine Aberrationsquote von 55 %. Der Kontrolltest betrug jeweils 1,4 %. Allerdings ist die Wirkung des Virus dominant, denn bei kombinierter Anwendung überwiegen die Chromosomenbrüche, während die von 4 NQO **bevorzugt** verursachten Schäden Translokationen sind. Das Einwirken beider Agenzien auf die Zellen resultiert in einer bis zu 23 - fachen Steigerung der Transformationsrate.

NICHOLS et al. (1971) stellten in ihren Versuchen mit Adenoviren Typ 5 eine unterschiedliche Empfindlichkeit menschlicher Epithelzellen (Niere) und Bindegewebszellen (Lunge) gegenüber der bruchinduzierenden Aktivität dieses Virus fest. Der Unterschied war nicht nur quantitativer Natur, was sich in der verschiedenen Bruchhäufigkeit zeigte (vergl. Tab. 3), sondern auch qualitativer Natur, was durch die verschiedenen Abschnitte des Zellzyklus, in dem die Zellen empfindlich waren, deutlich wurde.

Für die Auswertung wurden die Zellen in der Anaphase untersucht. Gezählt wurden acentrische Fragmente, Pseudochiasmen und multipolare Anaphasen. Der Zellzyklus dieser Zellen ist so, daß die Zellen, die sich zwei Stunden nach der Viruseinwirkung in der Anaphase befinden, sich während der Exposition entweder in der G_2 - Phase oder in der Mitose befanden, die, die 6 Stunden nach Viruszusatz in der Anaphase sind, in später S - Phase, G_2 - Phase oder in der Mitose und die Zellen, die nach 24 Stunden in der Anaphase sind, können alle Stadien des Zellzyklus durchschritten haben nach der Virusexposition, befanden sich also zur Zeit der Exposition in der frühen S - Phase oder in der G_1 - Phase.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Epithelzellen während der G_2 - Phase und in der Mitose am empfindlichsten sind, während die Fibroblasten in der S - Phase am empfindlichsten sind (vergl. Tab. 3).

NICHOLS et al. (1971) sehen eine Verbindung dieses Phänomens mit dem entwicklungsgeschichtlichen Differenzierungsprozess dieser beiden Zelltypen und eine mögliche Erklärung für die unterschiedliche Empfindlichkeit einzelner Gewebe und Organe auf die kanzerogene und teratogene Wirkung spezifischer Viren.

ZATSEPIN et al. (1970) untersuchten die Wirkung der Adenoviren Typ 4, 6 und 12 auf menschliche Fibroblasten " in vitro ". Sie stellten kurz nach der Infektion eine vorübergehende Stimulation der Zellteilung fest, die aber allmählich in eine Mitosehemmung überging. Die Rate der Chromosomenbrüche und Endoreduplikationen stieg von 3,7 +/- 0,5 % in der Kontrolle auf 16,8 +/- 1,3 % an in den Zellen, die mit AD 12 versetzt worden waren, bzw. auf 11,2 +/- 1,2 % in den mit AD 4 und 6 infizierten Zellen (vergl. Tab. 3). Im Gegensatz zu NICHOLS et al. (1971) fanden diese Autoren die höchste Bruchrate schon 3 - 4 Stunden nach der Infektion. Dann sank sie zwischen der 12. und 24. Stunde, um nach der 48. Stunde nochmals anzusteigen. ZATSEPIN et al. konnten serologisch mit der Immunofluoreszenzmethode Neo - antigen nachweisen. Über die Funktion des von onkogenen DNS - Viren synthetisierten Neo - Antigen^K ist noch wenig bekannt. Jedenfalls gelang es diesen Autoren mit einem Extrakt aus einem durch Adenovirus Typ 12 induzierten Hamstertumor, der Neo - Antigen, aber kein freies Virus enthielt, in 22,5 % Endoreduplikationen und Erosionen ($\hat{=}$ U_a vergl. 2.4.2.1) zu induzieren. Die Wertung als echte Anomalien muß allerdings als äußerst zweifelhaft gelten.

MAC DOUGALL (1971^b) unternahm seine Versuche mit Adenoviren der Typen 2, 7, 12, 18 und 31 an menschlichen, embryonalen Epithelzellen (Niere) und Fibroblasten (Lunge). Ihm kam es hauptsächlich darauf an, in Erfahrung zu bringen, ob die Aberrationen zufällig verteilt sind oder ob sie eine spezifische inter- und intrachromosomale Verteilung zeigen.

Um über die Zufälligkeit einer Bruchverteilung Aussagen machen zu können, müssen die auf jedem Chromosom tatsächlich gefundenen Anomalien mit den erwarteten verglichen werden. Man kann dabei von der relativen Länge der einzelnen Chromosomen, bzw. von dem prozentualen Anteil, den die verschiedenen Chromosomengruppen am gesamten DNS - Material ausmachen, ausgehen (LEVAN et al. 1964, zit. n. WEIDERT).

$$\frac{\text{erwartete Bruchzahl pro Chr.}}{\text{relative Länge des Chr.}} = \frac{\text{Gesamtbruchzahl}}{\text{Gesamtlänge d. Chr. - Satzes}}$$

Chr. Gruppe	rel. Länge (%)	Anzahl der geschädigten Zellen					
		Adenovirus - Typ					Kontr.
		2	7	12	18	31	
A 1	8,61	6	8	16	12	8	0
A 2	8,06	10	6	4	12	10	0
A 3	6,76	4	4	0	6	5	0
B 4/5	12,06	6	14	6	18	15	2
C 6 - 12, X	35,50	26	34	8	26	27	2
D 13 - 15	9,99	10	6	2	10	9	2
E 16		2	2	0	0	2	0
E 17	8,55	4	0	36	10	31	0
E 18		6	0	0	0	2	0
F 19/20	4,50	4	2	0	0	5	0
G 21/22, Y	4,10	4	2	0	4	0	0
insgesamt		78	78	72	98	114	6
Zellen mit Schäden		48	46	56	39	45	5
untersuchte Zellen		100	100	100	100	100	100

Tab. 4 Chromosomen in menschlichen Epithelzellen (Niere)
" in vitro " induziert durch Adenoviren
(MAC DOUGALL 1971^b)

Die Typen 2 und 7 lassen keine spezifische Wirkung erkennen, im Gegensatz zu den Typen 12 und 31 und im geringeren Ausmaß

auch Typ 12, die eine spezifische Wirkung am Chromosom Nr. 17 zeigen. Typ 12 verursacht außerdem auch am Chromosom Nr. 1 überdurchschnittlich häufig Schäden.

Eine Erklärung für dieses Phänomen gibt es bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht. Möglich wäre, daß diese Stelle des Chromosoms Nr. 17 in der DNS die Information für die Synthese eines frühen Enzyms enthält, das für die Virus - DNS - Synthese benötigt wird, z. B. eine Thymidinkinase (PINA et al. 1969, zit. n. MAC DOUGALL).

MAC DOUGALL (1970) untersuchte auch die Wirkung des Adenovirus Typ 12 auf genetisch abnorme Zellen. Die Chromosomen eines Patienten mit einem EDWARD's Syndrom, bei dem eine Trisomie E_{18} vorliegt, zeigten ebenfalls die typische nicht zufällige Verteilung der durch Adenovirus Typ 12 induzierten Aberrationen mit Bevorzugung des Chromosoms Nr. 17.

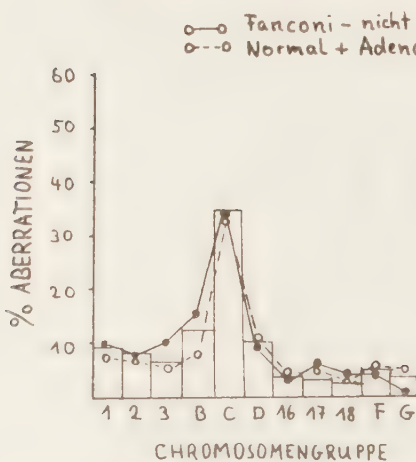


Fig. 2 Zufällige Verteilung

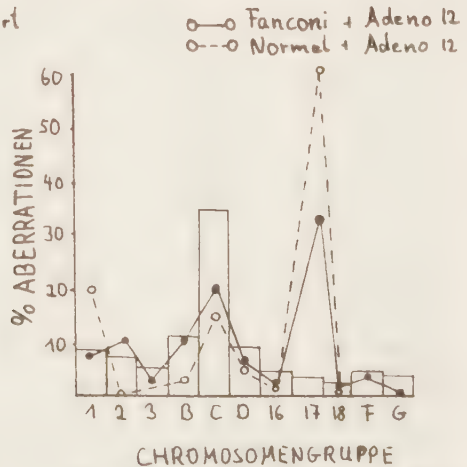


Fig. 3 Nicht zufällige Verteilung

Das Histogramm im Hintergrund basiert auf der Verteilung der Chromosomenmasse, je nach der relativen Länge der Chromosomen, und zeigt die danach zu erwartende Bruchhäufigkeit an.

An Fibroblasten von Patienten mit FANCONI - Anämie (verg. 2.3.1.2) konnte MAC DOUGALL (1971^a) die erhöhte spontane Aberrationsquote beobachten, die alle Chromosomen gleichmäßig betrifft und sich aus Chromatid- oder Isochromatid-Gaps und - Brüchen, aber auch aus Ringen und dicentrischen Chromosomen zusammensetzt.

Nach Infektion mit Adenovirus Typ 12 stieg die Rate an Chromatid - Gaps und Chromatid - Brüchen um das dreifache, an Isochromatid - Gaps und Isochromatid - Brüchen um das achtfache im Durchschnitt der einzelnen Chromosomengruppen an. Das Chromosom Nr. 17 zeigte jedoch eine zwanzigfache Zunahme der Anomalierate (vergl. Tab. 3).

3.1.4 Herpesviren

3.1.4.1 Herpes simplex - Virus

An Gewebekulturen des chinesischen Hamsters beobachteten HAMPAR und ELLISON (1961, zit. n. WEIDERT) nach Infektion mit Herpes simplex - Virus (HSV) erstmals virus - induzierte Chromosomenbrüche und Translokationen.

Neuere Arbeiten konnten diese Befunde bestätigen. So sahen WAHREN et al. (1972) in Leukozytenkulturen zweier Kinder mit Dysostosis cleido - cranialis (in Tab. 5: HR), bzw. mit einem TURNER - Syndrom (in Tab. 5: MB) nach " in vitro " Infektion mit HSV - Typ 1 Gaps, Brüche und Konstriktionen in einer Häufigkeit, die signifikant über den Kontrollwerten lag. Es zeigte sich eine Abhängigkeit von der Virusdosis (vergl. Tab. 5). Betroffen waren die terminalen und subterminalen Regionen der langen Arme von A - und B - Chromosomen. Da die Schäden nur in einigen Zellen auftraten, ist ein in der genetisch abnormen Zelle vermuteter bruchinduzierender Faktor wohl ohne Bedeutung.

HUANG et al. (1972) untersuchten den Effekt von Herpes simplex - Virus auf neun menschliche Stämme blutbildender

HERPES-Viren	Zellsystem	Typ	Zeit nach Infektion	Zellen mit Aberr. (%)	Anomalietyp	Kontrollwert (%)
a) Herpes-Simplex WAHREN (1970)	in vitro menschl. Leukoz.Kult.	HSV-Typ 1	24 - 48 St.	16,1 (NB) 13,1 (HR)	Gaps, Brüche, sek.Konstrikt., Pulveris. ϕ	2,6 6,9
HUANG (1972)	in vitro menschl. hämatopoiet. Zellen	HSV-Typ 1			Brüche, Gaps, "constrictions", Pulverisationen	
	1. EBV (+) (ges. Indiv.)		18 St. 29,5 St. 47 St.	40,0 54,5 63,7		
	2. EBV (-) (ges. Indiv.)		8,5 St. 20,5 St. 48 St.	74,1 96,0 35,7		
	3. EBV (+) (infekt. Monon.)		8 St. 18 St. 51 St.	35,7 50,0 74,1		0 - 11
	4. EBV (-) (myeloi-sche L.)		6 St. 12 St. 30 St.	57,1 66,2 (keine Mitose)		
	5. EBV (-) (Burkitt-Lymphom)		18 St. 29,5 St. 47 St.	19,0 37,0 32,8		
	6. EBV (+) (Burkitt-Lymphom)		8 St. 18 St. 50 St.	6 - 26,9 30,0		
	7. EBV (+) (Burkitt-Lymphom)		9,5 St. 21,5 St. 107 St.	26,6 20,0 13,3		0 - 14
	8. EBV (+) (Burkitt-Lymphom)		8 St. 28 St. 74 St.	14,0 16,0 6,0		
	9. EBV (+) (Burkitt-Lymphom)		4 St. 21 St. 50 St.	7,6 10,0 15,0		
DONNER (1970)	in vitro l-Zellen, HEP-2-Z.	HSV Typ ?	6,5 St.	27 38	Gaps, Brüche, "diffuse alterations"	2,0 2,0
O'NEILL (1969)	in vitro a) HEK-Zellen	HSV-Typ 1 HSV-Typ 2	4 St.	Brüche Chr. 1 9 16 5,1 9,0 5,6 15,7 18,7 21,3 14,4	Pulverisation ϕ 0,63	3,14 (Brüche) 1,14
	b) HEL-Zellen	HSV-Typ 1 HSV-Typ 2	4 St.	ϕ 0,28 0,28 3,00 1,67 3,00 3,00	ϕ 0,44	1,21 (Brüche)
	c) menschl. Leukoz.-Kulturen	HSV-Typ 1 HSV-Typ 2	24 St.	ϕ 0,10 0,07 ϕ 0,07	0,10 0,67	ϕ
b) Varizellen-Zoster-Virus	in vivo menschl. Leukoz.Kult.	Varizellenvirus	2.-5. Tag nach Exanthembeginn	7 - 28 (Durchschn. 16)		4,3
AULA (1965) zit. nach WEIDERT	in vivo menschl. Leukoz.Kult.	Varizellenvirus	1.-10. Tag nach Exanthembeginn	0 - 8,3 (Durchschn. 1,8)		1,3
CHUN (1966) zit. nach WEIDERT	in vivo menschl. Leukoz.Kult.	Varizellenvirus	2.-6. Tag nach Exanthembeginn	4,7 - 11,9 (Durchschn. 7,8)	Gaps, Brüche	4,2
WEIDERT (1969)	in vivo menschl. Leukoz.Kult.	Varizellenvirus	2.-12. Tag nach Exanthembeginn	2,0 - 38,2 (Durchschn. 24,0)	Chromatid- und Isochromatid-Gaps und -Brüche	4,0
BERNARD (1970)	in vivo menschl. Leukoz.Kult.	Varizellenvirus	24 St.	2,0	Pulverisation	ϕ
O'NEIL (1969)	in vitro menschl. Fibroblasten	Herpes-Zoster-Virus	24 St.			

X o. Text

Tab. 5 Chromosomenaberrationen, induziert "in vitro" und "in vivo" durch Herpes-Viren

Zellen hinsichtlich Chromosomenaberrationen, Zellwachstum und Virusvermehrung. Davon waren sechs Zellstämme chronisch mit Epstein - Barr - Virus (EBV, vergl. 3.1.4.4) infiziert, die anderen drei frei von diesem Virus; fünf stammten aus BURKITT - Lymphomen.

Es zeigte sich, daß das Ausmaß der Chromosomenschäden in den nicht aus BURKITT - Lymphomen stammenden Zellen wesentlich größer ^{war} ~~ist~~ als in den BURKITT - Lymphom - Zellen, unabhängig davon, ob EBV - positiv oder - negativ (vergl. Tab. 5). Auch sank die Lebensfähigkeit der Zellen in den vier Kulturen, die nicht aus BURKITT - Lymphomen stammten, nach der Infektion rapide ab und die Virusproduktion stieg schnell an. In den BURKITT - Lymphom - Zellen war das nicht der Fall, bzw. in einem viel geringeren Ausmaß. Es ist anzunehmen, daß diese relative Widerstandsfähigkeit gegenüber einer HSV - Superinfektion mit gewissen angeborenen Merkmalen der BURKITT -Lymphom - Zelle zusammenhängt. In Frage käme die völlige Integrierung des EBV - Genomes in das Genom der Zelle, die in den anderen EBV - positiven Zellen nicht stattfände.

RAPP et al. (1973) gelang kürzlich die morphologische Transformation gesunder Hamsterzellen durch HSV Typ 1 und 2. In ~~einigen~~ Fällen bildete sich zugleich ein onkogenes Potential in den transformierten Zellen. DARAI et al. (1973, zit. n. RAPP) berichteten über die Transformation menschlicher, embryonaler Lungenzellen durch HSV Typ 2.

O'NEILL et al. (1969) konnten mit Hilfe des Herpes-simplex-Virus zu mehreren interessanten Ergebnissen kommen. Zum einen konnten sie bestätigen, daß sowohl Typ 1 als auch Typ 2 des HSV in menschlichen Zellen Chromosomenschäden verursachen können (Pulverisation vergl. 2.4.2).

In menschlichen, ~~embryonalen~~ Nierenzellen (HEK), bzw. Lungenzellen (HEL in Tab. 5) traten schon vier Stunden

nach Behandlung mit HSV Typ 2 Chromosomenbrüche vom Chromatid - und Isochromatid - Typ auf, ebenso Pulverisation und starkes Hervortreten der sekundären Konstriktionen auf den Chromosomen Nr. 1, 9 und 16. Mit HSV Typ 1 wurde keine Pulverisation und nur geringe Zunahme der sekundären Konstriktionen beobachtet. Menschliche periphere Leukozyten zeigten erst nach 24 - stündiger Exposition in einer geringen Anzahl von Zellen eine Pulverisation der Chromosomen und Brüche (vergl. Tab. 5).

DONNER et al. (1970) infizierten L - Zellen und HEp - 2 Zellen mit Herpes-simplex - Virus " in vitro ". Die Ergebnisse sind in der Tabelle 5 enthalten. (vergl. auch 2.5.1 und 2.5.2)

3.1.4.2 Varizellen - Zoster - Virus

1965 untersuchte AULA erstmals, ob das Varizellen - Zoster - Virus Defekte an Chromosomen setzen kann. Bei der " in vivo " Untersuchung peripherer Leukozyten von Windpockenpatienten beobachtete AULA zwischen dem 2. und 5. Exanthemtag eine Bruchquote zwischen 7 und 28 % gegenüber einem Durchschnitt von 4,3 % in den Kontrollen (zit. n. MURKEN et al. 1970) (vergl. Tab. 5). GRIBENBERG et al. (1965) konnte diese Ergebnisse bestätigen, CHUN et al. (1966) allerdings nicht (zit. n. MURKEN et al.).

So startete WEIDERT (1969) eine Versuchsreihe mit zehn an Windpocken erkrankten Kindern. Die 21 Untersuchungen wurden an verschiedenen Krankheitstagen durchgeführt. Für die gefundenen strukturellen Chromosomenaberrationen wurde das Einteilungsprinzip von BAUCHINGER und HUG angewandt (vergl. 2.4.2.1). Es wurden Werte zwischen 4,7 % und 11,9 % gefunden, mit einem Durchschnitt von 7,8 % an den Exanthemtagen (2. - 6. Tag). Im Vergleich zu dem Kontrollwert von 4,2 % bedeutet das ein statistisch signifikanter Anstieg

der Bruchquote (χ^2 - Methode: $P = 0,0005$). (vergl. Tab. 5)
 Der Wert 7,8 % läßt sich in 5,6 % U - und 2,2 % S-Veränderungen aufschlüsseln, in den Kontrollen treten nur 0,5 % S -Veränderungen auf. Die S - Veränderungen machen also bei den Windpockenpatienten 28 %, bei den Kontrollen nur 11 % aller Chromosomenanomalien aus. Die Tendenz zu einem Bruchmaximum an einem bestimmten Tag wurde nicht erkennbar.

Es interessierte noch die Frage nach dem inter- und intrachromosomalen Verteilungsmuster (vergl. 3.1.3).
 Offensichtlich war eine Bevorzugung der langen Chromosomen (Gruppe A und B) und ein Bruchdefizit in den Gruppen C, D und E. In den Chromosomengruppen F, G und Y wurde insgesamt nur eine Aberration gefunden. Intrachromosomal ergab sich für die S - Veränderungen eine zufällige Verteilung, für die U - Veränderungen eine Häufung an den peripheren Chromosomenabschnitten.

Eine Abhängigkeit vom Ausbreitungszustand der Chromosomen innerhalb der Metaphaseplatten und vom Kontraktionszustand der Chromosomen ließ sich nicht erkennen, jedoch ging die Tendenz dahin, daß stark kontrahierte Chromosomen weniger Aberrationen zeigten. Innerhalb der numerischen Aberrationen fiel eine zehnfach höhere Tetraploidierate (1 : 200 statt 1 : 2000) auf. Die aneuploiden Zellen waren im Vergleich zu den Kontrollen nicht vermehrt.

BERNARD et al. (1970) untersuchte, neben anderen auch das Varizellen - Zoster - Virus in seiner Wirkung auf die Chromosomen. Dazu analysierten diese Autoren die Leukozyten von sechs an Windpocken erkrankten Kindern (vergl. Tab. 5).
 In vier von acht Versuchen konnten signifikant erhöhte Bruchquoten im Vergleich zu dem Kontrollwert von 4 % beobachtet werden mit einem Maximum am zweiten Exanthemtag. Die inter- und intrachromosomale Verteilung erscheint zufällig, mit einer geringen Bevorzugung der langen Chromosomen 1, 2 und 3.

Die gefundenen strukturellen Aberrationen bestanden vorwiegend aus Chromatid- und Isochromatidgaps und -brüchen.

O'NEILL et al. (1970) zeigten, daß das Varizellen - Zoster - Virus in der Lage ist, menschliche Chromosomen zu pulverisieren (vergl. 2.4.2).

3.1.4.3 Zytomegalie - Virus

Das Zytomegalie - Virus, das erstmalig aus menschlichen Speicheldrüsen isoliert wurde, kann beim Menschen eine lokalisierte und eine generalisierte Erkrankung hervorrufen. Bei der lokalisierten Form sind nur die Speicheldrüsen betroffen, bei der generalisierten auch die inneren Organe. Das Virus kann diaplazentar auf den Foeten übertragen werden.

KRECH et al. (1968, zit. n. HARTMANN) hatten bei " in vivo " - Analysen bei zwei Fällen Gaps und Brüche beschrieben. HARTMANN et al. (1972) bestätigten, daß das Zytomegalie - Virus auch " in vitro " einen chromosomenschädigenden Effekt haben kann (vergl. Tab. 6).

3.1.4.4 Epstein - Barr - Virus

1964 beschrieben EPSTEIN und BARR erstmals das Vorkommen eines Herpes - ähnlichen Virus in kultivierten BURKITT - Lymphom - Zellen. In den folgenden Jahren konnte dieses Virus, das nach seinen Entdeckern Epstein - Barr - Virus (EBV) genannt wurde, in zahlreichen Kulturen lymphoider und leukozytärer Zellen von gesunden Spendern, von Patienten mit infektiöser Mononucleose, mit Leukämie und mit BURKITT - Lymphomen nachgewiesen werden. Der BURKITT - Tumor ist ein Lymphosarkom, das bei afrikanischen Kindern vorkommt. Eine ätiologische Bedeutung ist inzwischen für die infektiöse Mononukleose und das BURKITT - Lymphom gesichert (HENLE et al. 1973). Eine Beziehung zu bestimmter

Leukämien des Menschen, vielleicht auch zum Morbus HODGKIN und zum Nasen- und Pharynxkarzinom wird vermutet (vergl. 4.2).

Die Frage nach spezifischen Chromosomenanomalien war im Fall des EBV in Zusammenhang mit seiner onkogenen Wirkung besonders interessant.

KOHN et al. (1969, zit. n. AMANO 1973) hatten in verschiedenen menschlichen, lymphoblastoiden Zellstämmen, von denen bekannt war, daß sie EBV enthielten, eine subterminale sekundäre Konstriktion auf dem langen Arm des Chromosoms Nr. 10 beobachtet. In der Folgezeit wichen die Angaben der einzelnen Autoren zu dieser " spezifischen ", durch EBV induzierten Anomalie teilweise sehr voneinander ab, viele beobachteten diese Aberration überhaupt nicht, andere nur in nicht signifikanter Häufigkeit, neben anderen ebenfalls nicht konstanten Chromosomenaberrationen.

AMANO et al. (1973) infizierten einen menschlichen, lymphoblastoiden Zellstamm mit EBV " in vitro ". Nach 2, 4 und 6 Stunden analysierten sie die Chromosomen und beobachteten in 5,5 %, 7,8 % und 15,2 % aller Zellen strukturelle Chromosomenschäden, nämlich sekundäre Konstriktionen, Translokationen und Deletionen. Bevorzugt betroffen waren die Chromosomengruppen A, B und C. (vergl. Tab. 6).

WAHREN et al. (1972) sahen in menschlichen Leukozyten 24 - 48 Stunden nach der Infektion ähnliche Veränderungen: vorwiegend in den subterminalen und terminalen Regionen der langen Arme der Chromosomen der Gruppen A, B oder C traten Gaps und sekundäre Konstriktionen in Erscheinung, aber keine Brüche (vergl. Tab. 6).

PETIT et al. (1972) untersuchten die Chromosomen eines EBV - positiven BURKITT - Lymphom - Zellstammes nach Fluoreszenzfärbung mit Quinacrine und beobachteten neben einer Hyperdiploidie ($n = 47$ Chromosomen), strukturelle Anomalien

HERPES-Viren	Zellsystem	Typ	Zeit nach Infektion	Aberr. (%)	Ausfalltyp	numer. Aberr.	Kontrollwert (%)
c) <u>Zytomegalie-Virus</u> KRECH (1968) zit. nach HARTMANN	in vivo menschl. Leukozyten	Zytomegalievirus	?	+ (6,3)	?	?	?
HARTMANN (1972)	in vitro menschl. embryonale Fibrobl.	Zytomegalievirus	?	+ (6,3)	?	?	?
d) <u>Epstein-Barr-Vir.</u> KOHN (1969) zit. nach AMANO	in vitro lymphobl. menschl. Zellstämme	Epstein-Barr-Virus	?	++	subterm. sek. Konstriktion auf dem langen Arm des Chr. Nr. 9 oder 10	0	?
AMANO (1973)	in vitro lymphobl. menschl. Zellstämme	Epstein-Barr-Virus	2 Std. 4 Std. 6 Std.	5,5 7,8 15,2	sek. Konstriktion, Translokationen, Deletion in A-, B-, C-Gruppe	0	?
WAHREN (1972)	in vitro menschl. Leukozyten	Epstein-Barr-Virus	2 $\frac{1}{2}$ - 43 Std.	13,3	Gaps. sek. Konstrikt. auf A-, B-, C-Gruppe, Brüche $\emptyset$	0	4,8
GERBER (1969)	in vitro menschl. Leukozyten	Epstein-Barr-Virus	?	"C-10 Marker Chr." 1 - 2	Ringe, Pulverisation Chr.	Aneuploid. Tris. C + D	Brüche
MACEK (1971)	in vivo lymphobl. Zellstämme von Pat. LK mit IM, LK und Bl *)	a) EBV + b) EBV -	Passage 11-608 Passage 11 - 37	0 - 9 (2,3) 1 - 4 (1,6,7)	$\leq 5,0$ $\leq 5,0$	90,0	2,0
HUANG (1971)	in vitro menschl. blutbild. Zellstämme	EBV	2,6 - 7,5 Tage	1 - 4	4 - 38	+++	Brüche 0 - 12

Tab. 6

Chromosomenaberrationen, induziert "in vitro" und "in vivo" durch Herpes-Viren

*) IM = infektiöse Mononukleose, LK = Leukämie, BL = Burkitt-Lymphom

in den Chromosomen der Gruppen 7 und 8, zwei sekundäre Konstriktionen in der C - Gruppe, aber nicht auf dem Chromosom Nr. 10, sondern auf Nr. 7 und Nr. 9.

JENSEN et al. (1969) sahen in den durch EBV morphologisch transformierten Lymphozyten eines gesunden Erwachsenen ohne Antikörper gegen EBV und andere Herpesviren nur in einer statistisch nicht signifikanten Höhe von 1 - 2 % das " C₁₀ - Marker - Chromosom ". Andere strukturelle Aberrationen traten dagegen gehäuft auf (vergl. Tab. 6). An numerischen Aberrationen fiel eine Trisomie in der Gruppe C auf; drei Wochen nach Infektion in 65 % der Zellen, sechs Wochen nach Infektion in 90 % der Zellen.

MONTELEONE et al. (1970) analysierten 25 Metaphaseplatten kultivierter Hautfibroblasten, die von Patienten mit infektiöser Mononukleose aus den Hautarealen mit und ohne " rash " gewonnen worden waren. Die Chromosomen dieser Zellen zeigten weder numerische noch strukturelle Aberrationen, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß dieses Gewebe von dem Virus nicht erreicht wird.

Die Arbeitsgruppe um MACKR (1971, 1972) führte ebenfalls vergleichende Chromosomenanalysen an EBV - positiven und EBV - negativen lymphoblastoiden Zellstämmen durch, um der Frage nachzugehen, ob eine spezifische Verbindung zwischen den gefundenen Chromosomenaberrationen und dem Vorhandensein, bzw. dem Fehlen des EBV besteht.

An drei Zellstämmen von Patienten mit akuter lymphoblastischer Leukämie, an sieben Zellstämmen von Patienten mit infektiöser Mononukleose (IM), an drei Zellstämmen von Patienten mit BURKITT - Lymphomen und an zwei Zellstämmen von gesunden Spendern konnte keine Korrelation zwischen dem Vorkommen von EBV und numerischen und strukturellen Chromosomenaberrationen erkannt werden.

Ein Überwechseln in hyperdiploide Chromosomenzahlen fand sowohl in EBV - positiven als auch in EBV - negativen Zellen

statt. Den Zustand einer völligen Heteroploidie zeigten nur drei IM - Zellkulturen nach langer Kultivation. In keiner Zellkultur traten die strukturellen Aberrationen in einer höheren Quote als 5 % auf (vergl. Tab. 6).

Die subterminale sekundäre Konstriktion (Cqh+) auf dem langen Arm eines C - Chromosomes trat nicht spezifisch in EBV - positiven Zellen auf. Auch die üblichen " Marker - Chromosomen " waren in allen 15 Zellkulturen zu finden, ohne Rücksicht auf das Vorkommen von EBV. In allen Kulturen waren Trisomien in der C - und G - Gruppe die häufigste Veränderung. Es scheint, als ob solche Zellen einen selektiven Wachstumsvorteil erreichen, denn ihre Häufigkeit nimmt mit der Dauer der Kultivierungszeit zu.

Auch HUANG et al. (1970, 1971) kamen zu dem Ergebnis, daß dem " C₁₀ - Marker - Chromosom " als Indikator für eine EBV - Infektion keine Bedeutung zukommt. An 16 Zellkulturen von BURKITT - Lymphom - Zellen und von Leukozyten von Patienten mit infektiöser Mononucleose (IM) beobachteten HUANG et al. in einer EBV - negativen und in zwei EBV - positiven Zellkulturen ein geringes Vorkommen (1 %, bzw. 4 %) von Zellen mit dem " C₁₀ - Marker - Chromosom " (vergl. Tab. 6).

Abschließend kann gesagt werden, daß allgemein die chromosomenschädigende Wirkung des EBV bevorzugt die terminalen und subterminalen Bezirke der langen Chromosomenarme trifft, daß aber keine eindeutige Korrelation zwischen dem Vorkommen des Epstein - Barr - Virus und dem " C₁₀ - Marker Chromosom ", einem Chromosom Nr. 10 mit einer subterminalen sekundären Konstriktion auf dem langen Arm, besteht.

3.1.5 Pockenviren

3.1.5.1 Vaccinia - Virus

In der Gruppe der Pockenviren ist die Wirkung des Vaccinia-Virus auf die menschlichen Chromosomen von besonderer Bedeutung, denn bei einer so generell durchgeführten ärztlichen Maßnahme wie es die Pockenschutzimpfung darstellt, ist es unerlässlich, jede mögliche Wirkung des Impfvirus in Betracht zu ziehen.

MATSANIOTIS et al. (1968) beobachteten an den Chromosomen von zwölf 1 - 6-jährigen Kindern postvaccinal keine Anomalien. Die Untersuchungen wurden zwischen dem 9. und 11. Tag nach der Impfung durchgeführt und zwischen dem 19. und 24. Tag nach der Impfung wiederholt.

Die Quote der strukturellen Aberrationen war mit 4,1 % im Vergleich zu dem Kontrollwert von 4,4 % eher leicht vermindert. Die Autoren lassen die Frage offen, ob im Falle einer Virämie nach der Vaccination Chromosomenaberrationen auftreten können (vergl. Tab. 7).

SCHULER et al. (1968, zit. n. BALDAUF et al) beschrieben dagegen bei zwei von acht erstmals gegen Pocken geimpften Kindern neun Tage nach der Vaccination eine erhöhte Rate an Chromosomenanomalien. In einer neueren Arbeit von BALDAUF et al. (1971) wird der mutagene Effekt des Vaccinia - Virus auf menschliche Lymphozyten "in vivo" und "in vitro" untersucht (vergl. Tab. 7). Dazu wurden drei Versuchsreihen gestartet; im ersten Versuch, in dem "in vivo" die Wirkung des Vaccinia - Virus auf die Chromosomen von sechs Erstimpflingen (Alter 6 - 34 Monate) analysiert wurde, konnte zum Zeitpunkt der fraglichen Virämie (7.Tag) eine statistisch signifikante Zunahme der Chromosomenaberrationen beobachtet werden. Auch bei dem "in vivo"-Versuch der zweiten Versuchsreihe, bei dem gesunde Erwachsene eine Auffrischimpfung erhielten, wobei die erste Impfung mindestens

POCKEN-Viren =====	Zellsystem	Typ	Infektion	Aberr. (%)	Anomalietyp	Kontroll- wert (%)
a) Vaccinia- Virus MATSANIOTIS (1968)	in vivo Knochen- markzellen	Vaccinia-V. (Impf-V.)	9. - 11. Tag p. vacc.	4,1	Gaps, Brüche	4,4
SCHULER (1968) zit. nach BALDAUF	in vivo Knochen- markzellen	Vaccinia-V. (Impf-V.)	9. Tag p. vacc.	+ (% ?)	Gaps, Brüche	?
BALDAUF (1971)	a) in vivo Leukozyt. von Erstimpflingen	Vaccinia- Impf-V.	7. Tag p. vacc.	10,3 ± 5,4		4,4 ± 1,9
	b) in vivo Leukozyt. von Erwachsenen, die eine Auffrisch- impf. erhielten (1. Impf. mind. 10 J. zurück)	Vaccinia- Impf-V.	4. Tag p. vacc. 7. Tag p. vacc. 6. Mon. p. vacc.	8,1 ± 3,0 12,8 ± 7,3 8,3 ± 3,0	Chromatid- und Chromoso- menbrüche, Gaps	8,1 ± 2,5
	b) in vitro	Vaccinia- Impf-V.	4. Tag p. vacc. 7. Tag p. vacc. 6. Mon. p. vacc.	10,5 ± 4,1 14,2 ± 6,0 8,5 ± 3,4	Chromatid- und Chromo- somenbrüche, Gaps	8,1 ± 2,5
	c) in vitro Leukozyt. von immun. Erwach- senen (jähr- wiederimpfung)	Vaccinia- Impf-V.	48 St./10 ⁴ PFU *) 24 St./10 ⁴ PFU 48 St./10 ⁵ PFU 24 St./10 ⁵ PFU	13,1 ± 4,0 10,6 ± 2,5 16,1 ± 3,6 10,5 ± 1,0	Chromatid- und Chromo- somenbrüche, Gaps	5,7 ± 1,6

Tab. 7 Chromosomenaberrationen, induziert "in vitro" und "in vivo"

durch Vaccinia-Impfvirus

*) PFU = Plaque forming units

zehn Jahre zurücklag, konnte am 7. Tag nach der Impfung ein Anstieg der chromosomalen Veränderungen von 8,1 % auf 12,8 % vermerkt werden; die parallele " in vitro " - Kultur, bei der die Lymphozyten derselben Spender mit dem Vaccinia - Virus beimpft wurden, lag mit 14,2 % noch höher. Vor dem 7. Tag und nach Ablauf von sechs Monaten ergaben sich weder bei den " in vivo " - Kulturen noch bei den " in vitro " - Kulturen deutliche Abweichungen vom Kontrollwert. Bei dem " in vitro " - Versuch der 3. Reihe, in der den Leukozytenkulturen immuner Erwachsener (letzte Impfung vor einem Jahr) Vaccinia - Virus zugesetzt wurde, ergab sich eine statistisch signifikante Zunahme der Rate der strukturellen Aberrationen in Abhängigkeit von der Konzentration und der Einwirkungsdauer des Virus (vergl . Tab. 7).

Es handelte sich zu 90 % um Chromatid- und Chromosomenbrüche. Die Wirkung des " Antigens " Virus ist offenbar abhängig vom humoralen und zellulären Immunstatus des einzelnen Menschen (vergl. 2.2.5). Dies geht aus dem zeitlichen Auftreten der Chromosomenaberrationen bei Wiederimpfungen (2. Reihe) - erst am 7. Tag - bzw bei sehr häufig Vaccinierten hervor (1. Reihe, vergl. Tab. 7).

3.2. RNS - Viren

3.2.1 Picornaviren

3.2.1.1 Enteroviren

In der Gruppe der Picornaviren kommt der Gruppe der Enteroviren für den Menschen die größte Bedeutung zu, und dabei interessieren uns vor allem die Polioviren 1, 2 und 3 wegen ihrer hohen Pathogenität für den Menschen. Erst vor 20 Jahren (1955) fand man mit der Möglichkeit der aktiven Immunisierung mit abgetöteten Viren (SALK) oder mit attenuierten, lebenden Viren (SABIN) einen Weg, die Morbiditätsrate an Poliomyelitis - bei konsequent durchgeführter Impfung aller Kinder und Erwachsener bis zum 45. Lebensjahr - auf ein Minimum zu senken.

Speziell bei der Impfung nach SABIN - der sogenannten Schluckimpfung - taucht, wie bei anderen Impfungen mit lebenden, nur abgeschwächten Viren, die Frage nach einer etwaigen Schädigung der Chromosomen durch das Impfvirus auf.

BARTSCH et al. berichteten in einer frühen Arbeit aus dem Jahre 1967 über ihre Versuche mit Poliovirus Typ 1 an menschlichen, embryonalen Darm- und Lungenzellen und an aneuploiden Epithelzellen (HEp - 2).

Die Autoren sahen eine gesteigerte Mitoserate und einen colchizinähnlichen Effekt an den Metaphaseplatten. Zwei Typen von Chromosomenanomalien werden beschrieben; zum einen echte Brüche vom Chromatid - Typ, zum anderen diffuse chromosomale Alterationen (vergl. Tab. 8). Die Schäden, die BARTSCH et al. vage als "diffuse Alterationen" bezeichnen, sind nach den Angaben dieser Autoren nur schwer von Vorgängen im Laufe der Karyorrhexis (= Auflösen des Zellkerns in gröbere Chromatidschollen während des Zelltodes) zu unterscheiden. Sie können vielleicht noch am ehesten mit Begriffen wie Pseudo-fragmentation, Entspiralisierung und auffallende sekundäre Konstriktionen belegt werden;;bei der Berücksichtigung nur

gut ausgebreiteter Metaphasen können nur Brüche beobachtet werden, jedoch keine "diffusen Alterationen". Mit aneuploiden Epithelzellen (Hep-2) starteten BARTSCH et al. (1967, 1969) eine zweite Versuchsreihe, in der sie die Virusvermehrung mit Guanidin hemmten. Es konnte gezeigt werden, daß das Entstehen von Chromosomenbrüchen nicht von einem vollständig ablaufenden Virusreplikationszyklus abhängt; im Gegensatz dazu entwickeln sich die "diffusen Alterationen" offensichtlich erst in späten Replikationsphasen. Auch die "C-anaphase like chromosomes", in denen die Schwesterchromatiden nicht mehr am Centomer miteinander verbunden sind, treten erst spät auf (vergl. 2.5.1 und 2.5.2.2).

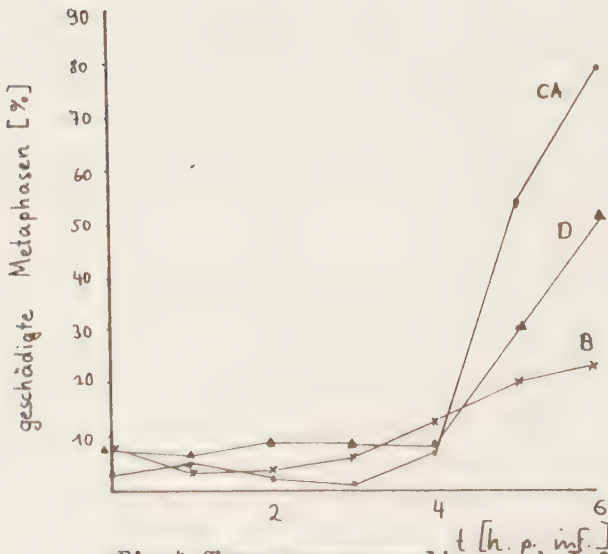


Fig.4 Chromosomenanomalien nach Infektion mit Poliomyelitisvirus (B: Chromatidbrüche; D: diffuse Alterationen; CA: C-anaphase-like chromosomes).

DZIEKANOWSKA et al. (1971) konnten die Ergebnisse von BARTSCH et al. nicht bestätigen. Sie untersuchten die Wirkung des Teschenvirus, des Erregers der ansteckenden Schweinelähmung, auf einen diploiden RES - Zellstamm einer embryonalen Schweineniere und den Einfluß des Poliomyelitisvirus auf einen hyperdiploiden HeLa - Zellstamm.

Nach der Infektion trat in den RES - Kulturen nach 48 Stunden und in den HeLa - Kulturen nach 8 Stunden ein cytopathischer Effekt ein, der die meisten Zellen zerstörte. Es konnte lediglich eine Hemmung der Mitoserate in beiden Kulturen festgestellt werden. Zahl und Morphologie der Chromosomen zeigten keine Veränderungen (vergl. Tab. 8). In dieser Versuchsreihe handelte es sich um denselben Virusstamm, den auch BARTSCH et al. verwendet hatten, jedoch um ein anderes Zellsystem.

GRAF (1970) analysierte die Leukozytenkulturen von elf Erstimpfungen in einem Zeitraum von 17 Tagen nach der Impfung. Zwei Probanden wurden außerdem vor und nach der Zweitimpfung untersucht. Bei den Impfungen handelte es sich durchweg um Kinder im Alter von 6 bis 30 Monaten, die vor und während der Untersuchung nicht bestrahlt und nur mit indifferenten Arzneimitteln behandelt worden waren. Die Impfung erfolgte mit " Oral Poliomyelitis Vaccine, Trivalent Types 1, 2, 3 " (PFIZER).

Neutralisierende Antikörper ließen sich nur bei einem Kind vor der Impfung in geringer Konzentration nachweisen. Nach der Impfung zeigten, mit einer Ausnahme, alle Kinder einen Antikörperanstieg um eine bis acht Stufen in der Verdünnungsreihe.

Bei der Auswertung der Mitosen fand GRAF bei 4 von 11 Kindern in der Zeit vom 6. bis 11. Tag, mit einem fraglichen Wert am 2. Tag, nach Polioschluckimpfung eine statistisch signifikante Zunahme der Gaps und Brüche (χ^2 - Methode, $P = 0,05$). Bei den übrigen 7 Patienten ergab sich kein Anhalt für eine

gesteigerte Bruchquote nach der Impfung. Der Kontrollwert lag bei 2,18 (vergl. Tab. 8).

Nach der zweiten Impfung wurden bei 3 Probanden je 50 Mitosen ausgewertet. Diese geringe Anzahl ließ eine statistische Auswertung nicht zu. Es fiel jedoch auf, daß die Aberrationsrate am 2. Tag und nach dem 5. Tag über den Kontrollwerten lag.

Die gewerteten Anomalien setzten sich aus kleineren Gaps ($= U_a$), deutlichen Gaps ($= U_b$), Brüchen, acentrischen Fragmenten und Translokationsfiguren zusammen. Der Einfluß des Virus auf die Aneuploidierate erscheint auf Grund der Zunahme der hyperdiploiden Zellen möglich.

Die interchromosomale und intrachromosomale Verteilung war nicht zufällig. So waren die langen Chromosomen (1 - 5) relativ häufiger betroffen als die kurzen (13 und folgende) und dabei bevorzugt die distalen Segmente der langen Arme der Chromosomen A_1 , A_2 und B. Ein Bruchdefizit war auf den kurzen Armen der Chromosomen B, C und F zu vermerken.

Ein Zusammenhang zwischen der Bruchhäufigkeit und der Streuung der Chromosomen war nicht erkennbar (vergl. ZOELCH, 3.2.5).

Die Frage, ob attenuierte Impfviren rein theoretisch überhaupt in der Lage sind, Chromosomenschäden an den peripheren Leukozyten zu verursachen, kann für die Polioviren Typ 1 und 2 positiv beantwortet werden, denn es ist erwiesen, daß prinzipiell die Möglichkeit einer Virämie zwischen dem 2. und dem 8. Tag nach der Impfung besteht und damit auch die Möglichkeit einer Wechselwirkung zwischen den Viren und den Leukozyten.

Was die Coxsackie - Viren der Gruppen A und B betrifft, die beim Menschen verschiedene Krankheitsbilder wie Herpesangina und Paralyse (durch Typ A), abakterielle Meningitiden, Myokarditiden und epidermale Myalgie (durch Typ B) hervorrufen können, so ist bis heute eine etwaige chromosomenschädigende Wirkung nicht bekannt.

BERNARD et al. (1970) konnten an einem einzigen Fall einer Echovirus 9 Infektion (meist inaktive fieberhafte Erkrankungen) einen signifikanten Anstieg der Aberrationsrate feststellen.

3.2.1.2 andere Picornaviren

Es gibt bis heute keinen Anhalt für einen schädigenden Effekt anderer Picornaviren, z.B. der Rhinoviren, auf die Chromosomen.

3.2.2 Reoviren

Es liegen keine Beobachtungen über eine chromosomenschädigende Wirkung dieser Viren vor, die beim Menschen Infektionen des Respirationstraktes und des Darms hervorrufen können.

PICORNA-Viren	Zellsystem	Typ	Zeit nach Infektion	Zellen mit Aberr. (%)	Anomalietyp	Kontrollwert (%)
Enteroviren						
BARTSCH (1968)	<u>in vitro</u> menschl. Darmzellen	Poliovirus Typ 1	6 Std.	10	Brüche	3
				20	"diffuse chromosomale alterations"	3
DZIEKANOWSKA (1971)	<u>in vitro</u> hyperdipl. HeLa-Zellstamm	Poliovirus Typ 1	?	Ø	Brüche	?
	RES-Zellstamm	Taschen-Virus				
GRAF (1970)	<u>in vivo</u> menschl. Leukozyten-Kulturen	orale Poliovaccine Typen I, II, III	6. - 11. Tag postvacc.	1 - 8,7 (4,65)	Gaps, Brüche,acentr. Fragmente, Translokationen	2,18
ARBO-Viren						
a) Gelbfieber-Virus						
HARDEN (1964) zit. n. FRIEDMANN	<u>in vivo</u> menschl. Leukozyten-Kulturen	Gelbfieber-Vaccine-Virus	7. - 9. Tag postvacc.	3 von 11 Patienten: 1/0, 7/9, 8/0	Gaps, Brüche, Pulverisation	= 5,0
FRIEDMANN (1970) VOGT (1970)	<u>in vivo</u> menschl. Leukozyten-Kulturen	Gelbfieber-Vaccine-Virus	3. - 17. Tag	2 - 8 (2,6)	Gaps, Brüche	2,3
				2,4	fragliche minimale Gaps	0,2
b) DENGUE-Virus						
ROSE (unveröffentlicht)	<u>in vivo</u> Knochenmarkzellen	Dengue-Virus	?	(+)	Brüche	?

Tab. 8 Chromosomenaberrationen, induziert "in vitro" und "in vivo"

3.2.3. Arboviren

"Arbo" ist eine Abkürzung für "arthropode borne", das heißt durch Arthropoden übertragen. Als Vektoren dienen vor allem Stechmücken und Zecken.

Die Gruppe der Arboviren umfaßt gegenwärtig etwa 230 verschiedene Viren, die hinsichtlich Morphologie und chemischem Aufbau recht heterogen sind (vergl. 2.3.4.1.).

Die Infektion erfolgt beim Menschen durch den Blutsaugakt einer Mücke oder einer Zecke; es kommt zur Virämie, die in das Stadium der Organmanifestation übergehen kann (ZNS, Leber, Niere).

3.2.3.1. Gelbfieber-Virus und Dengue-Virus

Gegen das Gelbfieber besitzen wir eine Schutzimpfung mit attenuiertem Lebendimpfstoff (17-D-Stamm, auf Hühnerembryonen gezüchtet), die mit zu den wirksamsten und verträglichsten Impfungen gehört.

Dieses attenuierte Impfvirus ist bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt, neben dem Dengue-Virus, das einzige Arbovirus, das in Bezug auf eine mögliche bruch-induzierende Wirkung analysiert wurde. HARNDEN (1964, zit. n. FRIEDMANN) hatte in Leukozytenkulturen bei 3 von insgesamt 11 Probanden am 7., 8. bzw. 9. postvaccinalen Tag extrem hohe Bruchhäufigkeiten von 80 %, 79 % bzw. 40 %, gegenüber 4 % in den Kontrollkulturen, gefunden (vergl. Tab. 8). VOGT et al. (1970) und FRIEDMANN (1970) konnten dieses Ergebnis nicht bestätigen insofern, als sie niemals so hohe Aberrationsquoten beobachten konnten. Allerdings fanden sie übereinstimmend mit HARNDEN, daß ein signifikanter Anstieg der Aberrationsquoten gegenüber dem Kontrollwert von 2,44 % (0,17 % Zellen mit U_a -, 1,6 % mit U_b - und 0,67 % mit S-Veränderungen) nur an einzelnen Tagen bei 4 von 12 Probanden zu erkennen war: einmal am 3. postvaccinalen Tag 10 %, zweimal am 7. Tag 8 % und einmal am 10. Tag 8 % U_b - und S-Aberrationen. Der Durchschnittswert nach der Impfung lag bei 5 % U_a -, U_b - und S-Veränderungen. Angestiegen war nach der Impfung aller-

dings lediglich die Zellanzahl mit minimalen Gaps ($\frac{1}{2} U_a$), die 2,5 % gegenüber 0,17 % in den Kontrollen betrug (vergl. Tab. 8).

Die von HARDEN beschriebene Chromosomenpulverisation konnte nicht gefunden werden; die Zahl der numerischen Aberrationen lag im Normbereich.

Es liegt nahe, die erhöhte Bruchrate bei einzelnen Impflingen an einzelnen Tagen mit einem Virämie maximum an diesen Tagen in Zusammenhang zu bringen. Über das Ausmaß und die Dauer der Virämie nach Gelbfieberimpfung liegen voneinander abweichende Angaben vor, so daß dieser Punkt vorläufig noch ungeklärt bleibt.

Die interchromosomale Verteilung ließ eine Bevorzugung - das heißt ein häufigeres Betroffensein, als ihrem Anteil an der gesamten Chromosomenmasse entspricht - der A_1 - und B-Chromosomen für die U_a - und S-Veränderungen, der C-Chromosomen für die S-Veränderungen erkennen und innerhalb der Chromosomen (nur A-Chromosomen untersucht!) eine Bevorzugung der peripheren Segmente der langen Arme.

ROSE et al. fanden bei 12 Patienten mit akutem Denguefieber in direkten Knochenmarkpräparationen nur sehr wenig Aberrationen (zit. n. NOWELL 1969).

3.2.4. Myxoviren

Die ursprünglich komplexe Myxovirusgruppe wurde 1962 von WATERSON (zit. n. STARKE) auf Grund der unterschiedlichen strukturellen und funktionellen Merkmale in die jetzt nur noch die Influenza-Virus-Gruppe enthaltenden Myxoviren und die Paramyxoviren unterteilt. GOLUBEV et al. (1971) untersuchten die Wirkung von 2 Influenza- A_2 / Hongkong/68-Virus-Varianten mit unterschiedlicher Virulenz auf die Chromosomen diploider embryonaler Lungenzellen (HDL) und auf die von HEP-2-Zellen (menschlicher aneuploider Zellstamm). Diese beiden Zelltypen zeigen eine unterschiedliche spontane Aberrationsrate, sind jedoch beide relativ unempfindlich für eine Infektion durch Influenzaviren; die Viren können sich in diesen Zellen nicht aktiv vermehren.

Die infizierten Zellen zeigten zu keinem Zeitpunkt (3. - 96. Std.) nach der Infektion einen cytopathischen Effekt. Die Chromosomenanalyse deckte einzelne Chromosomen- und Chromatidaberrationen und "diffuse alterations" des ganzen Chromosomensatzes auf.

Die chromosomalen Anomalien ($\frac{1}{2}$ Brüche u. "rearrangements") waren nach 3, 12 und 24 Stunden in den HDL-Zellen nur unwesentlich häufiger als in den Kontrollen, auch in der Wirkung der beiden Virusvarianten ließ sich kein statistisch signifikanter Unterschied erkennen (vergl. Tab. 9).

Hingegen stieg die Rate der chromatidalen Anomalien ($\frac{1}{2}$ Gaps und Brüche) in den HDL-Zellen ab der 3. Stunde nach der Infektion an. Eine verschieden starke Wirkung der beiden Varianten wurde nur bei der Analyse nach 12 Stunden deutlich (vergl. Tab. 9).

Außer diesen genau definierten Chromosomenschäden verursachten beide Varianten "diffuse alterations", die die Autoren in Pulverisation und Fragmentation der Chromosomen unterteilen. Danach sieht es so aus, als ob das virulente Virus häufiger Chromosomenpulverisation, die attenuierte Variante häufiger Chromosomenfragmentation induzieren würde (vergl. Tab. 9).

In den HEP-2-Zellen stieg nach der Infektion mit beiden Virusvarianten die Rate an Chromosomen- und Chromatidaberrationen schon 3 Stunden nach der Infektion an. Beide Viren verursachten Chromosomenfragmentation; Chromosomenpulverisation wurde nur nach Infektion mit der virulenten Variante beobachtet.

ILJYINSKIKH et al. (1972) untersuchten in vivo periphere Leukozyten von Patienten, die akut an Influenza erkrankt waren. In den ersten Tagen der Erkrankung konnte eine große Anzahl von Chromosomen- und Chromatid-Brüchen, von Isochromatid-Gaps und von verschiedenen Austauschfiguren beobachtet werden. Nach 10 Tagen wurde eine allmähliche Abnahme der Aberrationen erkennbar, bis schließlich innerhalb von 6 bis 8 Monaten eine vollständige Normalisierung eingetreten war. (vergl. Tab. 9)

Die Zahl der aneuploiden Zellen lag innerhalb des Normbereiches. BERNARD et al. (1970) fanden bei 2 Patienten während der ersten Tage der Erkrankung einen Anstieg der Aberrationsquoten von 4 % in den Kontrollkulturen auf 12,5 % bzw. 10,8 %.

3.2.5. Paramyxoviren

Die aufsehenerregenden Befunde, die NICHOLS et al. (1962, zit. n. NICHOLS 1965) an den Chromosomen von 5 an Masern erkrankten Kindern beschrieb, lenkten von Anfang an die Aufmerksamkeit vieler Forscher auf diese Virusgruppe. So sind heute das Mumps-Virus, das Sendai-Virus (Erreger von Infektionen des Respirationstraktes), das nur bei intensivem Kontakt mit erkranktem Geflügel auf den Menschen übertragene Newcastle-Disease-Virus (NDV) und das Masern-Virus in ihrer Wirkung auf die Chromosomen sehr genau analysiert. Das Phänomen der Chromosomenpulverisation wurde bereits im allgemeinen Teil dieser Arbeit ausführlich dargestellt (vergl. 2.4.2.). Im folgenden sollen deshalb nur die "in vivo" auftretenden Chromosomenveränderungen beschrieben werden, die "in vitro"-Versuche werden nur kurz angeführt. Wie schon erwähnt, beobachteten NICHOLS et al. bei "in vivo"-Versuchen an den Leukozyten von an Masern erkrankten Kindern während einer kurzen Phase (besonders am 5. Tag nach Ausbruch des Exanthems) Chromosomenbrüche vom "delayed isolocus Type" in 6,3 bis 71,8 % aller Zellen, im Vergleich zu 2,0 bis 5,4 % in den Kontrollen.

GRIPENBERG (1965) und AULA (1965) konnten diese Ergebnisse bestätigen, TANZER et al. (1963) und HARDEN (1964) nicht (zit. n. NICHOLS 1965). (vergl. Tab. 9) Auch nach der Impfung mit dem attenuierten EDMONSTON-B-Vaccinestamm beobachtete NICHOLS (1963, zit. n. NICHOLS 1965) bei einigen Impflingen Chromosomenbrüche häufiger als bei den Kontrollpersonen, jedoch wurden niemals so hohe Werte erreicht wie bei den akut an Masern erkrankten Kindern (vergl. Tab. 9). Aktive und passive Immunisierung konnte die Wirkung auf die Chromosomen verhindern. MURKEN (1968) und ZOELCH (1968) gingen nun ihrerseits daran,

Myxo-Viren	Zellsystem	Typ	Zeit nach Infektion	Zeilen mit Aberr. (%)	Anomalietyp	Kontrollwert (%)
				Chromoso- menaberr.	Chromatid- aberr.	"diffuse alterations" chromo- soma- tidale Aberr.
GOLUBEV (1971)	in vitro diploide embryo- nale Lungen- zellen	Influenza A ₂ / Hongkong E ₄ (virul.) E ₃₀ (avir.)	3 Std.	2,0 ± 1,4 4,0 ± 1,9	11,0 ± 3,1 11,0 ± 3,1	0,0±0,9 9,0±2,9
		E ₄ E ₃₀	12 Std.	2,0 ± 1,9 3,6 ± 2,5	30,0 ± 6,6 19,0 ± 5,3	0,0±1,9 10,0±4,5
		E ₄ E ₃₀	24 Std.	5,9 ± 2,9 3,0 ± 1,7	32,8 ± 5,7 27,0 ± 4,4	1,0±1,0 9,0±2,9
ILJINSKIKH (1972)	in vivo menschl. Leukoz.- kulturen	Influenza -Virus	1.-10.Tag nach dem 10. Tag 6.-8.Mon.	+++ ++ → + Normalisierung	Brüche	?
BERNARD (1970)	in vivo menschl. Leukoz.- kulturen	Influenza -Virus	erste Tage der Er- krankung	10,8 bzw. 12,5	Brüche, Gaps	4,0
PARAMYXO- Viren	in vivo					
a) Masern- Virus						
NICHOLS (1962) zit. nach ZOELCH	menschl. Leukoz.- Kulturen	Masern- Virus	2.-8.Tag n.Ausbr. d.Exanth.	6,3 - 71,8 (Ø 33,9)	"delayed isolocus type"-Brüche	2,0 - 5,4 (3,6)
	menschl. Leukoz.- Kulturen	Masern- lebend- vaccine	5. Tag	++ (jedoch gerin- ger als oben)	"delayed isolocus type"-Brüche	3,6
TANZER (1963) zit. nach ZOELCH	menschl. Leukoz.- Kulturen	Masern- Virus	1.-12.Tag	Ø		
AULA (1965) zit. nach ZOELCH	menschl. Leukoz.- Kulturen	Masern- Virus	4.-6. Tag	22,8	Brüche	3,8
MURKEN (1968) ZOELCH (1968) HIGURASHI (1973)	menschl. Leukoz.- Kulturen	Masern- Virus	1.-9. Tag	2,08	Brüche	1,96
	menschl. Leukoz.- Kulturen	Masern- Virus	1.-6. Tag	0,046	Brüche	0,020
	menschl. Leukoz.- Kulturen	Masern- Virus	1.-6. Tag	0,191		0,040
BERNARD (1970)	menschl. Leukoz.- Kulturen	Masern- Virus	2.-10.Tag	4 - 26 (Ø 13,5)	Brüche, Gaps	4,0
	menschl. Leukoz.- Kulturen	Mumps- Virus	3.-11.Tag	8 - 18 (Ø 11,3)	Brüche, Gaps	4,0
PARAMYXO- Viren	in vitro					
MAULER (1965)	Kanin- chen- nieren- zellen	Masern- virus	1 Std. 2 Std. 3 Std. 5 Std.	23,7 9,3 11,3 0,0	Brüche	1,7
				+	Pulverisi- sation	Ø
				+	Brüche	?
				++	Pulverisi- sation	Ø
				+	Brüche	?
				0,2 - 5,5	Pulveris.	Ø
				+	Brüche	?
				++	Pulveris.	?
				+	Brüche	?
				++	Pulveris.	?
NICHOLS (1965, 1967)	menschl. Gewebe- Kulturen	Masern- Virus		+	Brüche	?
STENNAN (1969)	menschl. Leukoz.- Kulturen	NDV Sendai-V. Mumps-V.		++	Pulverisi- sation	Ø
AVAKOVA (1971)	menschl. diploide Zellen	Masern- Virus		+	Brüche	?
RADYSHICH (1972)	menschl. diploide Zellen	Masern- Virus		+	Brüche	?
O'NEILL (1966)	menschl. Fibro- blasten	Sendai- Virus	0,5 Std. 1,5 Std.	7,0 2,8	Pulveris.	Ø
	menschl. Leukoz.- Kulturen	Sendai- Virus	4 Std.	0,8	Pulveris.	Ø
	menschl. Leukoz.- Kulturen	Masern- Virus	4 Std.	1,2	Pulveris.	Ø

Tab. 9
Chromosomenaberrationen, induziert "in vitro" und "in vivo"
durch Myxo-Viren und Paramyxoviren

die widersprüchlichen Ergebnisse zu überprüfen. Dazu analysierten sie die Leukozytenchromosomen von 7 an Masern erkrankten Kindern im Alter von 2 bis 11 1/2 Jahren.

Sie konnten die Ergebnisse von NICHOLS nicht bestätigen, denn die 1476 ausgewerteten Metaphasen zeigten keinen signifikanten Anstieg der Zellen mit Chromosomendefekten vom "delayed isolocus type".

ZOELCH verwendete den Begriff der "minimalen Bruchquote" (Bruchquote I. Ordnung B_I), der von AULA angegeben worden war. Darunter fallen die eindeutigen Chromosomendefekte. Er ergänzte diesen Begriff durch den der "maximalen Bruchquote" (Bruchquote II. Ordnung B_{II}), in dem auch kleine und kleinste Strukturveränderungen enthalten sind (vergl. Tab. 9).

Der Prozentsatz der Zellen mit eindeutigen Defekten (B_I) reichte von 0,95 % bis 6,93 % bei einem Durchschnitt von 2,08 %. Bei den gesunden Kontrollpersonen ergab sich eine relative Häufigkeit von 1,96 % Metaphasen mit eindeutigen Chromosomenaberrationen. Somit ließ sich kein statistisch signifikanter Unterschied zu den Masernpatienten nachweisen. Werden zweifelhafte Brüche (B_{II}) mitgezählt, so ergibt sich ein grundsätzlich ähnliches Bild durch Erhöhung der Werte um durchschnittlich 2 % (vergl. Tab. 9).

Die Werte der Verlaufskontrollen - vor dem 4. Tag und nach dem 6. Tag nach Ausbruch des Exanthems - wichen nicht eindeutig von den "kritischen Werten" des 4. bis 6. Tages ab.

Strukturumbauten, wie Ringe und polycentrische Chromosomen, wurden nicht beobachtet, und die Zahl der numerischen Aberrationen lag im Normbereich. ZOELCH konnte feststellen, daß der Kondensationsgrad der Chromosomen und das Ausmaß der Chromatidabspreizung die Bruchquote dahingehend beeinflussen, daß Zellen mit Chromosomen, deren Chromatidarme gut abgespreizt oder deren Chromosomen weniger kondensiert waren, mehr Defekte zeigten als andere Zellen. Eine Abhängigkeit von der Sichtbarkeit der Spiralwindungen wurde nicht deutlich.

HIGURASHI et al. (1973)^b stellten fest, daß Patienten mit einem DOWN-Syndrom einen signifikanten Anstieg der Bruchhäufigkeit ihrer

Chromosomen während einer Maserninfektion zeigten, an Masern erkrankte Kontrollpersonen dagegen keine vermehrte Bruchquote aufwiesen (vergl. Tab. 9). Vergleichbar mit den Syndromen, die mit einer gesteigerten spontanen Aberrationsquote einhergehen (Fauci-Anämie, Bloom-Syndrom, Ataxia-teleangiectasia), kann man zwischen der stärkeren Empfindlichkeit gegenüber der chromosomenschädigenden Wirkung von Viren und dem erhöhten Risiko für malignes Wachstum beim Down-Syndrom einen Zusammenhang sehen.

BERNARD et al. (1970) bestätigten einen chromosomenschädigenden Effekt des Masernvirus auch auf Zellen mit normalem Karyotyp (vergl. Tab. 9). An den Leukozytenchromosomen von 15 an Masern erkrankten Kindern beobachteten die Autoren zwischen dem 4. und 10. Tag nach Ausbruch des Exanthems in 4 % bis 26 % (Durchschnitt 11,7 %) der Zellen Chromosomenveränderungen. In den Kontrollkulturen betrug die Bruchquote 4 %. Die Chromosomenanalyse von 1 an Mumps erkrankten Kindern ließ eine Bruchhäufigkeit zwischen 8 % bis 18 % (Durchschnitt 11,3 %) zwischen dem 3. bis 11. Tag erkennen (vergl. Tab. 9). Die inter- und intrachromosomale Verteilung der Chromosomenaberrationen erschien sowohl bei den Masern- als auch bei den Mumpspatienten zufällig, abgesehen davon, daß die großen Chromosomen 1, 2 und 3 häufiger betroffen waren als andere Chromosomen. Die Anzahl der euploiden Zellen lag im Normbereich.

MAULER et al. (1965) beobachteten in Kautschukmierenzellen, in denen sich das Masernvirus nicht vermehrt, "in vitro" in durchschnittlich 11 % aller Zellen Chromosomenbrüche und Pulverisation und schlossen daraus, daß die Vermehrung des Masernvirus nicht eine "conditio sine qua non" für das Entstehen von Brüchen "in vitro" ist (vergl. 2.5.1.). STENMAN et al. (1970) gingen der Frage nach, ob "in vitro" vielleicht ein synergistischer Effekt von Röntgenstrahlen und Paramyxoviren auf die Chromosomen besteht. Die Autoren konnten an den Leukozyten von Frauen, die wegen eines Mammakarzinoms eine Teilkörper-Röntgenbestrahlung erhielten, zeigen, daß der zytogenetische Effekt dieser Viren

auf bestrahlte Zellen eher antagonistisch zu der Wirkung der ionisierenden Strahlen war, denn es konnte eine Abnahme der Schäden vom chromosomalen Typ und ein Gleichbleiben oder eine geringe Abnahme der Schäden vom chromatidalen Typ beobachtet werden.

STENMAN et al. halten dieses Ergebnis für das Zeichen einer verminderten Fähigkeit bestrahlter und virusinfizierter Zellen, in die Mitose einzutreten.

Bei der Infektion nicht bestrahlter menschlicher Leukozyten mit Paramyxoviren hatten STENMAN et al. (1969) keine Häufigkeitszunahme der Gaps und Brüche im Vergleich zu den Kontrollen beobachten können, jedoch zahlreiche pulverisierte Metaphasen (vergl. Tab. 9).

AVAKOVA et al. (1971) fügten "in vitro" Masernvirus zu diploiden Zellen aus menschlichem embryonalem Lungengewebe; die Autoren beobachteten sowohl Chromosomenbrüche als auch Chromosomenpulverisation und Polyploidien. HADYSHICH et al. (1972) konnten bei ihren "in vitro"-Versuchen mit 2 virulenten Masernvirusstämmen und 4 Impfvirusstämmen in der Wirkung auf die Chromosomen keine Abhängigkeit von der Virulenz feststellen. Alle Stämme induzierten Anomalien. Die Häufigkeit der Aberrationen wird in den beiden letztgenannten Arbeiten nicht angegeben (vergl. Tab. 9).

Zusammengefaßt kann gesagt werden, daß die Paramyxoviren, im speziellen das Masernvirus, offensichtlich "in vivo" und "in vitro" grundsätzlich Defekte an den Chromosomen verursachen können. Die unterschiedlichen Ergebnisse können viele Ursachen haben, die noch diskutiert werden (vergl. 4.1.).

3.2.6 Rhabdoviren

Diese Virusgruppe ist in dem hier betrachteten Zusammenhang bedeutungslos.

3.2.7 Leukoviren

3.2.7.1. Rous-Sarkom-Virus (RSV)

1910 beschrieb P. Rous ein spontan beim Huhn auftretendes Spindel-

zellensarkom. Ein Jahr später entdeckte er dessen Virusätiologie. Das Virus wurde nach seinem Entdecker ROUS-SARKOM-Virus genannt. Das RSV besitzt die Fähigkeit, "in vivo" Tumoren zu erzeugen und "in vitro" eine Zelltransformation zu induzieren.

In den sarkomatös entarteten Hühnerzellen können Chromosomenanomalien beobachtet werden. Eine Erscheinung besonderer Art ist das Auftreten von "double-minutes", deren Zahl zwischen einigen wenigen und mehreren Hundert pro Zelle schwankt (MARK 1967, zit. n. STICH 1970) (vergl. Tab. 10). Zur Ausbildung dieses Phänomens könnte es durch eine Fragmentation der Chromosomen oder durch zahlreiche Isochromatidbrüche kommen.

SHEVLIAGHYN et al. (1970) gelang die Transformation menschlicher embryonaler Fibroblasten mit dem Schmidt-Ruppin-Stamm des RSV. Als "co-cancerogener" Faktor diente inaktivierter Sendai-Virus. Während der ersten drei Wochen degenerierte ein Teil der Zellen, daraufhin traten Herde epitheloider Zellen auf, und es entstand eine stabile Zellreihe, die nach Implantation in Goldhamstergehirne Tumoren erzeugte. Die morphologische Transformation wurde von Chromosomenaberrationen begleitet.

BOUÉ et al. (1970) fanden nach der Infektion menschlicher diploider Zellen mit dem Schmidt-Ruppin-Stamm des Rous-Sarkom-Virus erst im Laufe des dritten Monats Veränderungen an den Chromosomen. Übereinstimmend mit SHEVLIAGHYN et al. sahen diese Autoren Trisomien in der C-Gruppe, außerdem ein Ringchromosom aus der D-Gruppe (vergl. Tab.10).

3.2.7.2. murine Leukoviren

BARSKI et al. (1968) untersuchten in 2 Versuchsreihen die chromosomenschädigende Wirkung der murinen Leukoviren. Einmal untersuchten sie "in vivo", die Chromosomen lymphoider Zellen von Mäusen, die im Alter von 8 Tagen mit dem GROSS-Virus infiziert worden waren.

Erst nach drei Monaten traten numerische Aberrationen bei 10 von 16

LEUKO-Viren =====	Zellsystem	Typ	Zeit nach Infektion	Zellen mit Aberr. (%)	Anomalietyp	Kontroll- wert (%)
a) <u>ROUS-Sarkom- Virus</u>						
MARK (1967) zit.n. STICH (1970)	in vivo Mäusetumor- zellen	Schmidt- Ruppin-St.		+ + + +	Brüche double-minutes Hyperdiploidie	
SHEVLIAGHYN (1970)	in vitro menschl. diploid. Zellen	Schmidt- Ruppin-St.		+ +	Brüche Trisomie C	
BOUE (1970)	in vitro menschl. diploid. Zellen	Schmidt- Ruppin-St.		+ +	Brüche Trisomie C	
b) <u>murine Leukoviren</u>						
BARSKI (1970)	in vivo Lymphoide Mäusezellen	GROSS-Virus		(+) + + +	Brüche sek. Konstrikt. Trisomien	
TSUCHIDA (1964) zit.n. BARSKI	in vivo lymphoide Mäusezellen	RAUSCHER-V. FRIEND-V.		ø + + 9 %	Brüche sek. Konstrikt. Trisomien	
ELLIOTT (1972)	in vivo lymphoide Mäusezellen	FRIEND-V.		ø + + +	Brüche sek. Konstrikt. Polyploidie	
TOGA-Viren =====						
<u>Röteln-Virus</u>						
NICHOLS (1965)	in vivo menschl. Leukozyten	Röteln-V.		ø ø	Brüche Pulverisation	
BERNARD (1970)	in vivo menschl. Leukozyten	Röteln-V.		ø ø	Brüche Pulverisation	
O'NEILL (1969)	in vitro menschl. Lungen- zellen	Röteln-V.		+ ø	Brüche Pulverisation	
BOUE (1967) zit. n. (18)	a) in vitro menschliche diploide Zellen b) in vivo Leukozyt.-V. Kindern mit GREGG-S. c) in vivo Abortiv- material	Röteln-V. Röteln-V. Röteln-V.	1.-12.Lebens- monat ab 12. Le- bensmonat	20 - 25 ø + → ++ +	Brüche Brüche Brüche	10 ø
SAMETINGER (1971)	in vivo Leukozyten- kulturen von Röteln- Geimpften	Cendehill = 51 Vac- eine	3. - 17. postvacc. Tag	1,61	Brüche, Gaps	1,10

Tab. 10 Chromosomenaberrationen, induziert "in vitro" und "in vivo"
durch Leuko-Viren und Toga-Viren

Mäusen auf; 5 davon zeigten einen hyperdiploiden Chromosomensatz mit 41 statt 40 Chromosomen (vergl. Tab. 10).

TSUCHIDA et al. (1964, zit. n. BARSKI) widmeten ihre Aufmerksamkeit den Mauseleukämien, die durch FRIEND- bzw. RAUSCHER-Virus induziert werden. Auch sie beobachteten hyperdiploide Metaphasen, außerdem ^{Marker} ~~Neon~~-Chromosomen und charakteristische sekundäre Einschnürungen, deren Häufigkeit im Laufe der Erkrankung zunahm (vergl. Tab. 10).

Bei "in vitro"-Versuchen konnten weder numerische noch strukturelle Aberrationen beobachtet werden (BARSKI et al., 1968).

ELLIOTT et al. (1972) fanden nur in 0,9 % der Milzzellen infizierter Mäuse Metaphaseplatten mit 41 Chromosomen, doch auch diese Autoren beschrieben sekundäre Einschnürungen, die in Korrelation mit dem Fortschreiten der Krankheit zahlenmäßig zunahmen. Neuere Ergebnisse weisen auf das häufige Vorkommen speziell dieser Aberration in malignen Tumoren hin, unter anderen in menschlichen Burkitt-Lymphomen (zit. n. ELLIOTT et al.).

3.2.8. Arenoviren

Diese Viren können bei dieser Betrachtung vernachlässigt werden.

3.2.9. Togaviren

Seit GREGG im Jahre 1941 erstmals die intrauterine Rotelinfektion im ersten Drittel der Schwangerschaft als Ursache für multiple kongenitale Mißbildungen und für Aborte erkannt hatte, war man sich der Bedeutung dieses Virus bewußt geworden und suchte nach einer spezifischen Prophylaxe, die heute in Form eines Lebendimpfstoffs zur Verfügung steht.

Da man eine biologische Bedeutung der virus-induzierten Chromosomenaberrationen darin vermutet, daß der durch diese herbeigeführte Zelltod zum Absterben bzw. zur Verstümmelung der Foeten führen kann, wenn die Schäden an den Chromosomen zur Zeit der Organogenese während

während der Embryogenese entstehen, war die Frage nach eventuell auftretenden Chromosomenanomalien bei Rötelerkrankung von großer Bedeutung.

NICHOLS et al. (1965) untersuchten die Leukozytenkulturen dreier Rötelpatienten. Sie konnten dabei keine gesteigerte Aberrationsquote feststellen (vergl. Tab. 9).

Auch in der Folgezeit verliefen die Chromosomenanalysen bei akut an Röteln erkrankten Patienten meist negativ. So konnte BERNARD et al. (1970) bei drei an Röteln erkrankten Kindern keinen Anstieg der Anomalierate beobachten. O'NEILL et al. (1970), die mehrere Viren hinsichtlich ihrer Fähigkeit untersuchten, "in vitro" eine Pulverisation der Chromosomen menschlicher embryonaler Lungenzellen herbeizuführen, konnten diese für das Rötelvirus nicht nachweisen. Andere Chromosomenveränderungen konnten jedoch beobachtet werden (vergl. Tab. 10).

BOUÉ et al. (1967, zit. n. BOUÉ 1968) konnten dieses Ergebnis bestätigen, indem sie "in vitro" diploide Zellen aus Explantaten menschlicher Haut und Muskeln infizierten. In 20 bis 25 % der Metaphaseplatten beobachteten sie Chromosomenbrüche; dagegen blieb der Prozentsatz in den Kontrollkulturen immer unter 10 % (vergl. Tab. 10). Bei Kindern mit einem GREGG'schen Syndrom konnten BOUÉ et al. während der ersten Lebensmonate eine verminderte Mitoserate in den Leukozytenkulturen beobachten, später dann mit dem Erreichen des ersten Lebensjahres einen signifikanten Anstieg der Bruchquote. WOLMAN et al. (1973) konnten dieses Ergebnis nicht bestätigen: bei 24 Kindern mit angeborener Rötelerkrankung - allerdings meist unter 1 Jahr alt - lag sowohl die Bruchrate als auch die Mitoserate innerhalb des Normbereichs. BOUÉ et al. fanden auch in Abortivmaterial - nach Rötelerkrankung der Mutter - eine gesteigerte Bruchhäufigkeit (vergl. Tab. 9).

Die Arbeit von SAMETINGER (1971) beschäftigt sich mit dem Rötelnimpfvirus. 11 Probandinnen wurden mit der abgeschwächten Lebendvaccine Stamm Cendehill - 51 geimpft und in der Zeit vom 3. bis 17.

postraccinalen Tag Chromosomenanalysen unterzogen; es wurden U_B - und S-Veränderungen gewertet.

In den 11 praevaccinalen Kontrollen derselben Personen wurden 2 S- und 6 U_B -Veränderungen (0,35 % bzw. 1,05 %), insgesamt also 8 Aberrationen (1,40 %), gefunden.

Demgegenüber konnten in den 56 postvaccinalen Abnahmen 14 S- und 30 U_B -Anomalien (0,51 % bzw. 1,10 %), zusammen 44 Aberrationen (1,61 %), nachgewiesen werden (vergl. Tab. 10).

Die Verteilung über die Kulturen der einzelnen postvaccinalen Tage war zufällig. Ein signifikanter Anstieg der Aberrationsquote nach der Impfung gegenüber den Kontrollen konnte also nicht nachgewiesen werden.

Was die teratogenetische Wirkung des Rotelvirus betrifft, so mußten mehr Chromosomenanalysen an Abortivmaterial oder an Kindern mit einer Rötelnembryopathie vorliegen, um eine Aussage darüber machen zu können, ob die durch das Virus an den Chromosomen gesetzten Defekte die teratogenetische Wirkung erklären können (vergl. 4.2.).

3.2.10. Coronaviren

Genauere Kenntnisse über die offenbar sehr weit verbreiteten Coronaviren, die beim Menschen und bei Tieren eine typische Erkältungskrankheit des oberen Respirationstraktes verursachen können, stehen noch aus.

3.2.1. noch nicht klassifizierbare Viren

3.2.11.1. Hepatitis-Virus

MATSANIOTIS et al. (1966) analysierten die unmittelbar dem Knochenmark entnommenen Zellen von 8 an Hepatitis epidemica erkrankten Kindern in der Zeit vom 1. bis 18. Tag nach Ikterusbeginn. Bei der Betrachtung der numerischen Aberrationen ergaben sich keine Besonderheiten. Polyploide Zellen waren nur in der auch bei den Kontrollzellen vorkommenden Häufigkeit zu beobachten, in den wenigen hypodiploiden

Zellen war der Verlust eines Chromosoms zufällig verteilt. Die Rate der strukturellen Aberrationen war mit 12,2 % Chromatid- und Isochromatidbrüche und -Gaps im Vergleich zu 0,6 % in den Kontrollen signifikant erhöht (vergl. Tab. 11).

In einer späteren, in größerem Umfang durchgeführten Untersuchung erhielten MATSANIOTIS et al. (1970) ähnliche Ergebnisse. Sie analysierten Knochenmarkszellen von 27 an infektiöser Hepatitis erkrankten Kindern während der aktiven Phase (in der 1. und in der 3. Woche nach Ikterusbeginn) und während der Remission (in der 6. Woche nach Ikterusbeginn).

Eine Häufigkeitszunahme der numerischen Aberrationen konnte auch in dieser Versuchsreihe nicht festgestellt werden.

In den als Kontrollen dienenden Zellen fanden sich in 1,2 % der Zellen strukturelle Aberrationen. Bei den Hepatitis-Patienten konnten in der 1. Woche in 9,6 %, in der 3. Woche in 11,3 % und in der 6. Woche in 0,7 % aller Zellen Chromosomenveränderungen beobachtet werden (vergl. Tab. 11).

Die gefundenen Anomalien setzten sich aus einzelnen oder multiplen Chromatid- und Isochromatid-Brüchen und -Gaps zusammen.

In der 1. und 3. Woche war der Anstieg der Bruchhäufigkeit statistisch signifikant (χ^2 -Methode; $P = 0,001$). In der 6. Woche nach Ikterusbeginn, zu einem Zeitpunkt, als sich die Laborwerte wieder normalisiert hatten, konnten keine Chromosomenaberrationen mehr beobachtet werden.

Die Verteilung auf die einzelnen Chromosomen war nicht zufällig.

Die Chromosomen der Gruppen A_2 und B_{4-5} waren auffallend häufig betroffen, die der Gruppen F und G - Y überhaupt nicht (vergl. Tab. 12).

Eine Abhängigkeit von der Schwere des Krankheitsverlaufs, vom Geschlecht oder Alter der Patienten ließ sich nicht feststellen.

Chromosomengruppe	Chromosomenaberrationen	
	gefunden	erwartet
1	11	10
A 2	25 (1)	10
3	4	3
B ₄₋₅	30 (1)	13
C _{6-12-X}	35	42
D ₁₃₋₁₅	4	11
E ₁₆₋₁₈	3	8
F ₁₉₋₂₀	0	5
G ₂₁₋₂₂	0	4
Y	0	2

Tab. 12

Verteilung der
Chromosomenanomalien
auf einzelne Chromo-
somengruppen (nach
MATSANIOTIS et al.)

EMERIT L & J. (1972), die ebenfalls direkt dem Knochenmark entnommene Zellen eines Australia-Antigen-positiven Patienten (vergl. unten), der 3 Wochen nach Ikterusbeginn eine hypoplastische Anämie entwickelt hatte, "in vivo" untersuchten, sahen ähnliche Veränderungen an den Chromosomen wie MATSANIOTIS et al. (vergl. Tab. 11).

In 24,1 % der Metaphasen konnten Gaps, Brüche und "minute fragments" beobachtet werden. Gleichzeitig (3. Woche) und 3 Monate später legten diese Autoren Leukozytenkulturen desselben Patienten an. In den Leukozytenchromosomen traten außer den Aberrationen, die nur eine Chromatide betreffen, auch Brüche beider Chromatiden und dicentrische Chromosomen auf, die vielleicht während der 2. Zellteilung entstanden waren (Kultivierungszeit = 48 Std.). Der Prozentsatz der geschädigten Metaphasen belief sich auf 40,4 %.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von MATSANIOTIS et al. waren 3 Monate nach Ikterusbeginn noch in 24 % der Zellen Chromosomen-defekte nachweisbar (vergl. Tab. 10).

Auch MELLA (1968) hatte an Leukozytenkulturen von 18 an infektiöser Hepatitis erkrankten Patienten ein längeres Persistieren der chromosomalen Defekte feststellen können. Die Autorin analysierte die Chromosomen einen, vier, sieben und neun Monate nach der akuten Erkrankung.

Im 1. Monat besaßen ^β 19 % aller Metaphasen, im 4. bis 6. Monat 9 % und im 7. bis 9. Monat 7 % strukturelle Veränderungen. Daneben beobachtete MELLA eine hohe Aneuploidierate von 48 % im 1. Monat, von 28 % im 4. bis 6. Monat und von 8 % im 7. bis 9. Monat. In den Kontrollkulturen belief sich die Bruchrate auf 1 % und die Aneuploidierate auf 2 % (vergl. Tab. 11).

Im 9. Monat, als der Prozentsatz der geschädigten Zellen wieder fast bis auf den Kontrollwert abgesunken war, wurde ein Versuch unternommen; einigen Patienten und einigen gesunden Individuen wurde 0,2 ccm Adrenalin subcutan injiziert; 15 Minuten vor und 15 Minuten nach der Injektion wurde Blut zur Kultur entnommen.

Die Chromosomenanalyse ergab, daß nach der Adrenalininjektion wieder ein hoher Prozentsatz geschädigter Zellen im peripheren Blut auftrat. Man kann diese Erscheinung mit der durch Adrenalin bewirkten Leukozytose erklären, wenn man davon ausgeht, daß diese Zellen aus den Reservoiren für Leukozyten, wie der Lunge, der Leber, dem Knochenmark und der Milz, freigesetzt werden. Es müßte sich demnach um die während der akuten Phase durch das Virus geschädigten Lymphozyten handeln, die anschließend aus der peripheren Blutbahn in die lymphoiden Gewebe gewandert sind.

Die gefundenen numerischen Aberrationen betrafen vorwiegend (zu 92 %) die Chromosomengruppen E, F und G, die strukturelle Aberrationen (zu 91 %) die langen Arme der Chromosomen A und B.

VORMITTAG et al. (1972, 1973) gingen der Frage nach, ob die bei

akuten Virushepatitiden auftretenden chromosomalen Anomalien in einen Zusammenhang mit dem sogenannten "Australia-Antigen", dem "Hepatitis Associated Antigen" (HAA), gebracht werden können. Es kann heute als gesichert angesehen werden, daß die beiden Formen der akuten Virushepatitis - die Hepatitis epidemica und die Serumhepatitis - durch zwei verschiedene Virustypen verursacht werden. Das Australia-Antigen steht offenbar in enger Beziehung zu dem Erreger der Serumhepatitis (BLUMBERG et al., zit. n. VORMITTAG et al. 1973). Daher kommt auch dem HAA-Befund eine entscheidende Bedeutung bei der Differentialdiagnose der beiden Virushepatitiden zu.

Von 11 Patienten (im Alter zwischen 21 bis 69 Jahren) wurden Lymphozytenkulturen angelegt, und während der akuten Erkrankung und nach Normalisierung der Laborbefunde wurden Chromosomenanalysen durchgeführt.

Bei 6 Patienten konnte das Australia-Antigen mindestens einmal nachgewiesen werden, bei 5 Patienten wurden nur HAA-negative Befunde erhoben.

Die Zahl der aneuploiden Metaphasen, die überwiegend hypodiploid waren, wich nicht von der Norm ab und ließ keine Abhängigkeit vom HAA-Befund erkennen. Das traf auch für die nur vereinzelt auftretenden polyploiden Zellen zu.

Die Häufigkeit der Metaphasen mit strukturellen Aberrationen belief sich bei der Kontrollgruppe auf $1,2 \pm 2,24$ %. Bei den Hepatitis-Patienten waren zum Zeitpunkt der Erstkultur in der HAA-positiven Gruppe im Durchschnitt $21,5 \pm 6,75$ %, in der HAA-negativen Gruppe nur $7,2 \pm 3,03$ % chromosomale Aberrationen nachweisbar (vergl. Tab.11). Die Differenz dieser beiden Werte ist statistisch signifikant. Unterschiedliche Eigenschaften und/oder ein unterschiedlicher Infektionsmodus könnten die Ursache für dieses Ergebnis sein.

Bei denjenigen Patienten, bei denen der HAA-Befund rasch (innerhalb von 1 bis 3 Wochen) negativ wurde, fiel auch die Aberrationsrate

HEPATITIS-Virus	Zellsystem	Typ	Zeit nach Infektion	Zellen mit Aberr. (%)	Anomalietyp	Aneu- ploid, ploid, wert (%)	Kontroll- ploid, wert (%)
MATSANIOTIS (1968)	In vivo Knochenmarkzellen	Hepatitis-Virus	1.-18. Tag nach Infektion	12,2	Chromatid- u. Isochromatid-Gaps u. -Br.	±	0,6
MATSANIOTIS (1970)	In vivo Knochenmarkzellen	Hepatitis-Virus	1. Woche 3. Woche 6. Woche	9,6 11,3 0,7	Chromatid- u. Isochromatid-Gaps u. -Br.	±	1,2
EMERIT (1972)	a) In vivo Knochenmarkzellen (HAA +) b) In vivo Leukozytenkulturen	Hepatitis-Virus	3. Woche	24,1	Gaps, Brüche, minute Fragments		?
MELLA (1968)	In vivo Leukozytenkulturen	Hepatitis-Virus	3. Woche 12. Woche	40,0 24,0	Gaps, Brüche, dicentriche Chromosomen		?
VORMITTAG (1972, 1973)	In vivo Leukozytenkulturen a) HAA + b) HAA -	Hepatitis-Virus	1. Monat 4.-6. Mon. 7.-9. Mon.	19,0 9,0 7,0	Brüche, Gaps	48,0 28,0 8,0	1,0 Brüche 2,0 Aneup.
STEFANESCU (1972)	In vivo Leukozytenkulturen a) chron.-aktive Hep. b) gesunde Indiv. mit Hep.-Vorge-schichte c) ohne Hep.-Vorge-schichte d) mit al-koh. Leber-tis-zirrhose e) mit mechan. Ikterus	Hepatitis-Virus	1.-3. Woche Verlauf 2 - 28 J.	a) 21,5 ± 6,74 b) 7,2 + 3,03 13,7 3,6 2,0 4,56 4,2	Gaps, Chromatid- und Chromosomenbrüche Gaps, Brüche, Fragmente, dicentr. Chr. Gaps, Brüche, Fragmente, dicentr. Chr. Gaps, Brüche, Fragmente, dicentr. Chr. Gaps, Brüche, Fragmente, dicentr. Chr. Gaps, Brüche, Fragmente, dicentr. Chr.	± 5,5 2,4 2,0 3,3 2,7	± 0,7 ø 0,4 1,0 1,2
DEMENTEV (1972)	In vivo Leukozytenkulturen chron.-akt. Hepatitis	Hepatitis-Virus		+ (% ?)	Gaps, Brüche	?	?
CANDIDATE-HEPATITIS-Viren							
ZUCKERMANN (1970)	In vitro menschl. diploide Leberzellen	a) AR-17-Virus b) San-Carlos-Virus		3 25	Gaps, Brüche 2 halbpulv. Metaphasen, 1 dicentr. Chr.		2 3
MYKOPLASMEN							
AULA (1967)	In vitro Leukozytenkulturen	M. saliv. M. hominis Typ 2 M. fermentans		18 - -			5,6
KUNDSIN (1971)	In vitro Leukozytenkulturen	T-Strain Mykopl.		+			

Tab. 11

Chromosomenaberrationen, induziert "in vivo" durch Hepatitis-Virus, "in vitro" durch "Candidate-Hepatitis"-Viren und durch Mykoplasmen

rasch ab, im Gegensatz dazu blieb sie lange hoch, wenn der HAA-Befund lange positiv war. Diese Erscheinung könnte sowohl auf eine fortgesetzte Zellschädigung als auch auf das Verbleiben der primär geschädigten Zellen im zirkulierenden Blut oder eher auf eine lang anhaltende Abgabe primär geschädigter Zellen aus dem lymphatischen Gewebe in die Blutbahn zurückzuführen sein (vergl. MELLA).

Nach VORMITTAG et al. ist eine höhere cancerogene Belastung bei diesen Menschen nicht auszuschließen, zumal das Australia-Antigen beim primären Leberzellkarzinom gehäuft gefunden wurde.

Die Chromosomendefekte bestanden aus Gaps und Chromatidbrüchen, daneben konnten vereinzelt Isochromatidgaps und Chromosomenbrüche beobachtet werden.

In Übereinstimmung mit MELLA und MATSANIOTIS et al. fanden auch diese Autoren eine nicht zufällige Verteilung der strukturellen Aberrationen mit Bevorzugung der Chromosomen A₁, A₂ und B₄₋₅, wobei keine Abhängigkeit vom HAA-Befund bestand.

Die Arbeit von STEFANESCU et al. (1972) beschäftigt sich mit der Frage, ob auch im Zustand einer chronisch-aktiven Hepatitis auf dem Boden einer Virushepatitis Chromosomenanomalien gehäuft auftreten. 12 Patienten, die nach klinischen und histopathologischen Kriterien an chronisch aktiver Hepatitis litten (Verlauf 1 Jahr), dienten als Probanden. Als Kontrollen dienten vier verschiedene Personengruppen: 5 gesunde Individuen, die keine Hepatitisvorgeschichte hatten, 5 Individuen, die vor mindestens 5 Jahren eine Hepatitis durchgemacht hatten, die jetzt aber völlig ausgeheilt war, 3 Patienten mit alkoholischer Leberzirrhose ohne Virushepatitis in der Anamnese und 4 Patienten mit mechanischem Ikterus auf Grund eines Karzinoms. Der Prozentsatz der Zellen mit chromosomalen Veränderungen war bei den Patienten mit chronisch-aktiver Hepatitis signifikant höher als bei allen 4 Kontrollgruppen (13,7 % gegenüber 3,6 %, 2,0 %, 4,56 %, 4,2 %) (vergl. Tab. 11).

DEMENTEV et al. (1972) beschrieben ebenfalls strukturelle Aberrationen vom Chromatid- und Chromosomen-Typ bei Patienten mit chro-

nischer Virushepatitis, die bei einigen in eine Zirrhose übergegangen war (vergl. Tab. 11).

Ohne Erklärung bleibt vorläufig die Frage nach dem Entstehungsmechanismus der Brüche während einer chronischen Hepatitis.

Eine Möglichkeit wäre die, daß die Hepatitis-Viren auf Dauer von den kleinen Lymphozyten transportiert werden, wie es für Adenoviren und einige Herpesviren nachgewiesen werden konnte.

Die Möglichkeit, daß die geschädigte Leber bruch-induzierende Faktoren produziert, ist unwahrscheinlich, da sonst auch bei einer Alkoholleber Chromosomenaberrationen auftreten müßten. Ebenso unwahrscheinlich ist ein Persistieren der Defekte seit der akuten Phase, da sonst auch gesunde Individuen mit einer Hepatitisvorgeschichte an ihren Chromosomen gehäuft Defekte zeigen müßten (STEFANESCU et al. 1972).

STOLLER et al. (1966) hatten einen ätiologischen Zusammenhang zwischen der Hepatitis epidemica und dem DOWN-Syndrom (Trisomie 21) aufgestellt. Diesen Schluß zogen sie aus der über einen Zeitraum von 23 Jahren in Australien gemachten Beobachtung, daß das Auftreten einer Hepatitisepidemie mit den gehäuften Geburten mongoloider Kinder neun Monate später korrelierte. Andere Autoren konnten allerdings keine Beziehung speziell zu der infektiösen Hepatitis beobachten, bestätigten jedoch jahreszeitliche Schwankungen in der Häufigkeit des DOWN-Syndroms bei Neugeborenen (zit. n. NICHOLS 1970 b).

Neben dem aus epidemiologischer Sicht geäußerten Verdacht, daß Viren an der Ätiologie der Trisomie 21 beteiligt sein konnten, leitet auch die Erkenntnis, daß Viren mannigfaltige Schäden an dem genetischen Material verursachen können, in diese Richtung. Die virus-induzierte "non-disjunction", die zum Bild der Trisomie 21 führen wurde, konnte auf eine Genmutation zurückzuführen sein, denn jedenfalls von der DROSOPHILA-Fliege weiß man, daß Genmutationen für eine "non-disjunction" verantwortlich sein können. Bis heute fehlt allerdings der Beweis dafür, daß virus-induzierte Chromosomenbrüche grundsätzlich als Indikator für stattgefundene Genmutationen gelten können (vergl. 4.2).

Eine andere Möglichkeit wäre das Entstehen einer "non-disjunction" durch eine Nucleoluspersistenz während der Mitose (vergl. 2.4.1.) Schließlich könnten Viren beim Entstehen eines DOWN-Syndroms durch eine Mitosehemmung in der Eizelle beteiligt sein. Diese hätte eine Überreife des Eies mit den daraus resultierenden Schäden zur Folge (NICHOLS 1970 b).

3.2.11.2. "candidate-Hepatitis-Viren"

ZUCKERMANN et al. (1970) untersuchten die Wirkung zweier Viren, die unter anderen als Erreger der Hepatitis in Frage kommen, auf embryonale diploide Leberzellen.

Es handelte sich um das SAN CARLOS-Virus 3 (Davis 1961), ein DNS-Virus, und das AR-17-Virus (TAYLOR et al. 1962), ein RNS-Virus, die aus den Fäkalien eines Indianerkindes mit akuter Hepatitis isoliert worden waren.

Die Infektion mit AR-17-Virus führte nicht zu einem gehäuftem Auftreten von chromosomalen Aberrationen in den Leberzellen; im Gegensatz dazu bewirkte das SAN CARLOS-Virus 3 einen signifikanten Anstieg der Brüche und Gaps (vergl. Tab. 11). Das Auftreten pulverisierter Chromosomen spricht ebenfalls für einen virus-induzierten Chromosomenschaden.

3.2.12. Anhang: Mykoplasmen

Rickettsien

Gewebekulturen sind relativ häufig mit Mykoplasmen kontaminiert. AULA et al. (1968) gingen der Frage nach, ob und inwieweit diese Tatsache bei der Interpretation virus-induzierter Chromosomenaberrationen eine Rolle spielt.

Zu diesem Zweck versetzten sie menschliche Leukozytenkulturen mit 3 Mykoplasmenstämmen: *M. salivarium*, *M. hominis* Typ 2 und *M. fermentans*. Alle 3 Stämme hemmten die Mitose, außerdem zeigten

die mit *M. salivarium* infizierten Leukozyten nach 5 Tagen Inkubation eine erhöhte Bruchrate von durchschnittlich 18 % (14 - 22%) im Vergleich zu 5,6 % in den Kontrollen (vergl. Tab. 11). Morphologisch waren die Anomalien nicht von virus-induzierten Aberrationen zu unterscheiden (vergl. 2.5.4.).

KUNDSIN et al. (1971) konnten bei ihren Versuchen mit "T-Strain"-Mykoplasmen menschlicher Herkunft an den Chromosomen peripherer Leukozyten Anomalien entdecken, obwohl diese Mykoplasmen keine Arginindeaminase besitzen (vergl. 2.5.4.).

Die Aberrationen setzen sich aus Chromatid- und Isochromatid-Gaps und -Brüchen zusammen.

Abschließend kann gesagt werden, daß es für die eindeutige Interpretation virus-induzierter Chromosomenaberrationen unerlässlich ist, mykoplasmen-freie Zellkulturen zu haben.

Nach HALKKA et al. (1970) kommen auch Rickettsien als potentielle bruch-induzierende Faktoren in Frage.

4. DISKUSSION

4.1. Mögliche Ursachen für unterschiedliche Ergebnisse

Beim Vergleich der Befunde einzelner Autoren findet man innerhalb einer Virusgruppe sehr häufig weitgehend übereinstimmende Ergebnisse, teilweise aber auch große Abweichungen qualitativer und quantitativer Natur.

Mehrere Faktoren können zu einer Beeinflussung der gefundenen Aberrationshäufigkeit insgesamt und der der einzelnen Aberrationstypen führen und erschweren so den Vergleich der Ergebnisse.

- Bei der Beurteilung von Chromosomenaberrationen bei akut an einem Virusinfekt erkrankten Personen muß man gelegentlich auch einmal an die Möglichkeit einer Fehldiagnose denken.

- Verschiedene Virusstämme mit unterschiedlichen Antigenen, biologisch und physikalisch-chemischen Eigenschaften könnten voneinander abweichende Ergebnisse bedingen (vergl. NICHOLS 1965; vergl. 3.2.5.).

- An "sekundäre", gleichzeitig wirkende Schädigungen muß gedacht werden: frühere oder koinzidierende weitere Virusinfektionen oder Impfungen können vielleicht die Bruchquote beeinflussen. AULA & NICHOLS (1967; vergl. 3.2.12.) hatten auf die Möglichkeit der Verfälschung der virus-induzierten Bruchrate nach oben durch eine gleichzeitig bestehende Mykoplasmeninfektion hingewiesen. Die Ergebnisse von FOGH et al. (1970; vergl. 3.1.2.1.) sprechen allerdings eher für eine entgegengesetzte Wirkung der Mykoplasmen.

Die bei vielen Menschen vorliegende Strahlenbelastung durch diagnostische Röntgenuntersuchungen kann als bruch-induzierender Faktor wohl vernachlässigt werden (BAUCHINGER 1967); anders ist die Strahlenbelastung zu bewerten, die durch therapeutische Dosen hervorgerufen wird (vergl. SCHMID & BAUCHINGER, 2.3.2.). STENMAN et al. (1970) beobachteten allerdings, daß der zytogenetische Effekt von Paramyxoviren eher antagonistisch zu der Wirkung der ionisierenden Strahlen

war (vergl. 3.2.5.).

Eine etwaige Therapie mit Medikamenten, von denen eine Wirkung auf die Chromosomen vermutet wird (z. B. coffeinhaltige Mittel, Psychopharmaka, Antibiotika, Zytostatika), muß mitberücksichtigt werden.

Ein kumulativer Effekt von Viren und chemischen Substanzen konnte für Arabinosylcytosin (vergl. 2.5.1., O'Neill et al. 1971) und der alkylierenden Substanz 4 NQO (vergl. 3.1.3., STICH et al. 1972) nachgewiesen werden.

- Auch individuelle Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber der chromosomenschädigenden Wirkung von Viren konnten einen Einfluß haben. Es gibt Hinweise dafür, daß der Immunstatus des einzelnen Menschen eine gewisse Rolle spielt (vergl. 3.1.5., BALDAUF et al. 1971; vergl. 3.2.5. NICHOLS 1965).

- Wenn man davon ausgeht, daß das Patientengut bei allen Untersuchungen zufällig ausgewählt und heterogen im Hinblick auf die oben genannten Faktoren ist, kommen wohl in erster Linie Unterschiede in Material und Methode als Ursache für abweichende Ergebnisse in Frage.

Da die Chromosomendefekte nur während einer kurzen Zeitspanne nachgewiesen werden können, ist der Blutabnahmetermin bei "in vivo"-Untersuchungen von großer Bedeutung, ebenso die Kulturzeit, da die Leukozyten in der üblichen Kulturzeit von 65 bis 72 Stunden gerade eine Zellteilung durchmachen. Bei späteren Teilungen besteht die Gefahr, daß bestimmte Aberrationstypen nicht redupliziert werden (zit. n. WEIDERT 1969).

Auf den möglichen Einfluß des Kulturmediums weisen die Versuche von FREED & SCHATZ hin, die durch einen Mangel an essentiellen Aminosäuren im Medium Chromosomendefekte induzieren konnten (vergl. 2.5.4.).

Bei den nicht an peripheren Leukozyten durchgeführten Analysen ist an eine etwaige unterschiedliche Empfindlichkeit verschiedener Zelltypen zu denken (vergl. 3.1.3., NICHOLS 1971).

Auch die Auswahl der zum Vergleich verwendeten Kontrollwerte spielt eine Rolle, denn diese sind ebenfalls großen Schwankungen unterworfen. Innerhalb eines Labors sind die von verschiedenen Untersuchern angegebenen Kontrollwerte jedoch vergleichbar (vergl. GRAF 1970).

Zudem machen die unterschiedliche Beurteilung und Zuordnung der beobachteten Anomalien zu bestimmten Klassifikationstypen einen Vergleich gelegentlich unmöglich.

4.2. Biologische Bedeutung der virus-induzierten Chromosomenaberrationen

Eine endgültige Klärung der biologischen Bedeutung der virus-induzierten Chromosomenaberrationen steht noch aus, doch sind sie von potentieller Bedeutung für die Teratogenese, die Karzinogenese, für das Entstehen von Autoimmunprozessen, für das Altern und für die genetische Belastung der Bevölkerung durch Mutationen in den Keimzellen (NICHOLS 1972 c, GEBHART 1974). NOWELL (1969) diskutiert die Möglichkeit eines kausalen Zusammenhangs mit Autoimmunprozessen.

4.2.1 Teratogenese

Ausgedehnte Defekte, zu denen Chromosomenbrüche und instabile chromosomale "rearrangements" gehören, führen gewöhnlich zum Tod der Zelle; wenn dies während der organogenetischen Periode der Embryogenese geschieht, kann es zur Mißbildung der Frucht, zu ihrem Absterben und zum spontanen Abort kommen (NICHOLS 1970 a, 1972 b + c; RAVINA et al. 1970).

Ein sicher teratogenetischer Effekt beim Menschen ist von dem Rötelnvirus bekannt (GREGG 1941, zit. n. ELIZAN et al.).

Andere Viren, wie das Mumps-Virus (EMANUEL et al. 1971), das Varizellen-Zoster-Virus (SAVAGE et al. 1973) und das Herpes-Simplexvirus werden in Zusammenhang mit Mißbildungen beim Neugeborenen gebracht, doch **fehlen bis** zum heutigen Zeitpunkt die eindeutigen Be-

weise für diese Vermutungen.

4.2.2. Mutationen in den Keimzellen

Von diesen Mißbildungen, hervorgerufen durch "sekundäre" Schädigung der Foeten in utero (die Keimzellen sind intakt), sind die genetischen Entwicklungsstörungen und Mißbildungen zu trennen. Diese beruhen auf Chromosomenanomalien, die schon in der Zygote vorhanden sind und durch mutationsbedingte Teilungsanomalien ("non-disjunction") in der Gamete hervorgerufen werden. Numerische Aberrationen in Form von Trisomien und Monosomien sind die Folge, z. B. 47, XXY (KLINE-GELTER-Syndrom), 45, XO (TURNER-Syndrom), Trisomie G (DOWN-Syndrom). Im Gegensatz dazu scheint ein großer Teil der strukturellen Aberrationen von den Eltern auf die Kinder übertragen zu werden, z. B. 46, XX oder XY (5_p^{-}), das cri-du-chat-Syndrom, und nicht als Neumutation zu entstehen. In der Untersuchung von JACOBS (1972, zit. n. HANSMANN 1973) konnte nur bei 1/4 der analysierten Strukturaberrationen eine Neumutation als Ursache angesehen werden.

0,51 % aller Neugeborenen besitzen einen aberranten Karyotyp (zit. n. HANSMANN). Die schwereren Aberrationen stören dagegen die embryonale Entwicklung derart, daß sie in spontanen Aborten eliminiert werden (LARSON et al. 1970). Im 1. Trimester sind 51,8 % (BOUÉ et al. 1970, zit. n. HANSMANN), im 2. Trimester 34 % aller Spontanaborte chromosomal aberrant bedingt (RUZICKSKA et al. 1970, zit. n. HANSMANN; PAWLOWITZKI 1972).

Ionisierende Strahlen, chemische Substanzen und auch Viren haben ein mutagenes Potential. Defekte an den Chromosomen, hervorgerufen durch diese Agenzien, könnten Indikatoren für Genmutationen sein. Bei Versuchen mit ionisierenden Strahlen und chemischen Stoffen ergaben sich eindeutige Korrelationen zwischen induzierten Chromosomenaberrationen und induzierten Genmutationen (zit. n. NICHOLS 1972 c; BLOOM 1972); wenn dies für die Viren auch zutrifft, so

können diese über Mutationen im Keimgewebe verantwortlich sein für einen Anstieg der genetischen Belastung der Bevölkerung (RÖHRBORN et al. 1971) (HANSMANN 1973).

4.2.3. Mutationen in den somatischen Zellen

4.2.3.1. Karzinogenese

In den somatischen Zellen konnte die mutagene Aktivität einiger Viren in einen Zusammenhang mit dem Tumorwachstum gebracht werden (NICHOLS 1969 a). Schon 1914 hatte TH. BOVERI die Theorie vertreten, daß somatische Mutationen für das maligne Zellwachstum verantwortlich seien (zit. n. NICHOLS 1970 a).

Der virus-induzierte Chromosomenbruch als sichtbares Zeichen einer stattgefundenen Genmutation könnte die Brücke zwischen der somatischen Mutationstheorie und der von F. ROUS (1911) angegebenen Theorie der viralen Ätiologie des Krebses sein (NICHOLS 1969 a, 1972 c). Es erschien naheliegend, Chromosomenaberrationen als Ursache für malignes Zellwachstum anzusehen, denn in fast allen Tumoren wurden defekte Chromosomen gefunden. Die Zellen mit den geschädigten Chromosomen bilden häufig "Stammlinien" oder sog. "Klone", und oft besteht der ganze Tumor aus einem einzigen "Klon", der sich aus Zellen zusammensetzt, die alle dieselben Anomalien aufweisen.

Auch das gehäufte Vorkommen von Leukämien und Tumoren des RES bei dem BLOOM-Syndrom, der FANCONI-Anämie, der ATAXIA-TELEANGIEKTASIA und der TRISOMIE 21 spricht für eine spezifische Rolle der Chromosomenaberrationen bei der Entstehung von Tumoren (zit. n. BLOOM 1972, vergl. 2.3.1.2.; SCHROEDER 1973).

Offen bleibt die Frage, ob die Chromosomenanomalien wirklich die primäre Erscheinung sind und das maligne Wachstum induzieren, oder ob sie nur die mögliche Folge der Entartung der Zelle sind, denn es gibt auch Tumoren ohne sichtbare Chromosomendefekte (NOWELL 1969, NICHOLS 1970 a); außerdem sind die zu beobachtenden Anomalien von Tumor zu Tumor verschieden, auch wenn die beiden Tumoren histologisch identisch sind.

Eine Ausnahme bildet dabei das sog. "Philadelphia-Chromosom (Ph^1)", ein Chromosom der Gruppe 21 - 22, dem ungefähr die Hälfte seines langen Armes fehlt (NOWELL et al. 1960, zit. n. ROSSFELD et al. 1970). Dieses Chromosom kann konstant in 90 bis 95 % aller Fälle von chronisch myeloischer Leukämie (CML) beobachtet werden. Dabei sind dann die Knochenmarkzellen zu 100 % Ph^1 -positiv. Die 5 bis 10 % Ph^1 -negativen CM-Leukämien sind prognostisch ungünstiger zu beurteilen als die Ph^1 -positiven Fälle.

Das Ph^1 -Chromosom ist nahezu spezifisch für die chronisch-myeloische Leukämie; es kann aber auch bei einigen anderen Erkrankungen des myeloproliferativen Systems in einem gewissen Prozentsatz von Knochenmarkzellen beobachtet werden. Den auslösenden Faktor für diese Chromosomenanomalie kennt man nicht.

Neben ionisierenden Strahlen müssen auch einige Viren in die nähere Betrachtung einbezogen werden (vergl. EPSTEIN et al. 1971; SPIEGEL-MANN et al. 1973). Diese Noxen könnten indirekt über diese spezifische Chromosomenschädigung an dem Entstehen der Leukämie beteiligt sein; allerdings ist bis heute die Rolle des Ph^1 -Chromosoms an der Pathogenese der CML noch unklar.

Andere tierische und menschliche Tumoren, deren Virusätiologie allgemein als gesichert anerkannt wird (EPSTEIN 1971; HENLE et al. 1973) - z. B. das ROUS-Sarkom, die murinen Leukämien und das BURKITT-Lymphom - weisen nicht so konstant charakteristische "Marker"-Chromosomen auf.

Vielleicht ist es daher eher die allgemeine Instabilität der Chromosomen, hervorgerufen durch Viren und andere bruchinduzierende Stoffe oder auch durch einen genetischen Faktor, als eine bestimmte Chromosomenanomalie, die die maligne Transformation der Zelle nach sich führt (PORTER et al. 1969; ANSARI 1970). Der endgültige Beweis dafür, daß für den onkogenen Effekt einiger Viren der Chromosomendefekt - als Zeichen einer Genmutation - verantwortlich ist, steht also noch aus; rein spekulativ ist auch die Überlegung, ob auch die nicht onkogenen Viren möglicherweise an der Karzinogenese be-

teiligt sind.

Eine Möglichkeit, wie diese "normalen" Viren an der Krebsentstehung mitwirken könnten, diskutiert UNGLAUB-LEISTEN (1973), von der Überlegung ausgehend, daß die nach vielen Virusinfektionen und Impfungen im peripheren Blut zu beobachtenden Chromosomenaberrationen ein Phänomen der T-Lymphozyten sind, denn nur diese werden im Gegensatz zu den B-Lymphozyten durch Phythämagglutinin stimuliert. Nun kommt aber den langlebigen T-Zellen eine zentrale Bedeutung bei der zellulären Immunität, bei der Transplantationsabstoßung und vermutlich auch bei der Abwehr von Karzinomzellen zu. Ein Versagen der Immunabwehr durch eine virus-induzierte "T-Zellen-Depression" (UNGLAUB-LEISTEN) könnte die Ursache für das autonome Wachstum von Tumorzellen sein.

Dafür spricht, daß Menschen mit angeborener oder erworbener Immunsuffizienz - z. B. beim WISKOTT-ALDRICH-Syndrom - viel häufiger an Malignomen erkranken als gesunde Individuen.

Die Chromosomendefekte sieht die Autorin ganz allgemein als ein sichtbares Zeichen einer stattgefundenen Schädigung der T-Zellen durch die Viren an, die dann zum Funktionsausfall dieser Zellen führen würde. Die Schädigung könnte Mutationen und die Zellabtötung umfassen (NOWELL 1969).

4.2.3.2 Autoimmunprozesse

Auch das Auftreten von Autoimmunkrankheiten könnte durch die Vorstellung von virus-induzierten Mutationen in den immunkompetenten Zellen eine Erklärung finden. Die mutierten Lymphozyten hatten dadurch die Fähigkeit verloren, körpereigene Antigene zu tolerieren und würden als "forbidden dones" zelluläre und humorale Immunreaktionen auslösen. EMERIT et al. (1972) fanden z. B. bei Patienten mit Colitis ulcerosa gehäuft Chromosomenanomalien in den peripheren Blutlymphozyten. Als ätiologische Faktoren werden für diese Krankheit bakterielle oder virale Infektionen und Autoimmunvor-

gänge diskutiert.

4.2.3.3 Alterungsprozesse

Die virusinduzierten genetischen Veränderungen sind auch für das Altern von potentieller Bedeutung (zit. n. NICHOLS 1972).

Somatische Mutationen, die sich im Laufe des Lebens in den Körperzellen mehren, könnten zu einem Verlust der zellulären Funktionen führen (NICHOLS 1972; NOWELL 1969).

Abschließend kann die Feststellung getroffen werden, daß in Zukunft die Viren wegen ihrer potentiellen genschädigenden Wirkung, die aufgrund des ubiquitären Vorkommens dieses Agens von besonderer Bedeutung sein könnte, wohl in eine Reihe neben die ionisierenden Strahlen und die chemischen Substanzen gestellt werden müssen, wenn über mutagene Faktoren in der Umwelt des Menschen diskutiert wird.

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, den Problemkreis um die virus - induzierten Chromosomenaberrationen nach folgenden Gesichtspunkten zu erfassen:

1. Welche Viren bzw. Virusgruppen können Chromosomenaberrationen induzieren ?
2. Welche Aberrationstypen entstehen bevorzugt durch Virus-
einwirkung ?
3. Wie kann man sich den Entstehungsmechanismus der virus -
induzierten Chromosomenanomalien vorstellen ?
4. Welche biologische Bedeutung kommt den gefundenen Anomalien zu ?

Zu 1 : Es wird deutlich, daß sowohl DNS- als auch RNS-Viren Chromosomenaberrationen verursachen können. Der Klassifikation nach MELNIK folgend, gibt es, mit Ausnahme der Parvoviren, der Reoviren, der Rhabdoviren, der Arenoviren und der Coronaviren, in allen Virusgruppen Viren, die als potentiell chromosomenschädigend gelten müssen.

Die in der Literatur beschriebenen Aberrationsquoten sind in den Tabellen 1 - 11 aufgeführt. Bei den " in vitro " - Untersuchungen liegen die Werte zwischen $\approx 5\%$ und 74% (NICHOLS 1971, menschliche Epithelzellen infiziert mit Adenoviren), der Durchschnitt beträgt 24% ($\approx$ Zellen mit Aberrationen).

Bei den " in vivo " - Untersuchungen liegen die Aberrationsquoten zwischen $0,0\%$ und $71,8\%$, mit einem Durchschnitt von 12% . Die Kontrollwerte liegen zwischen 0 und 10% .

Die sehr hohe Bruchquote von 71,8 % wurde von NICHOLS (1962) bei einem Kind mit Masern beobachtet. Die Ergebnisse späterer " in vivo " - Untersuchungen mit dem Masernvirus (ADLA 1965, KOPPEL 1968, KIKUCHI 1973, BERNARD 1976) ergeben wesentlich niedrigere Werte. So weichen auch die Angaben der einzelnen Untersucher bei anderen Viren teilweise recht erheblich voneinander ab; die Ursachen werden diskutiert: verschiedene Virusstämme, gleichzeitig wirkende andere Schädigungen (Röntgenstrahlen, Medikamente), Unterschiede in Material und Methode in den einzelnen Laboratorien.

Zu 2 : Eine Wirkung auf die Aneuploidie- und die Polyploidierate wird bei den nicht onkogenen Viren mit cytopathischem Effekt nur selten beobachtet. Bei der gelegentlich beschriebenen großen Anzahl von aneuploiden Zellen (z. B. bei MELLA: 48 %) dürfte es sich um Artefakte durch die Präpariertechnik handeln.

Onkogene Viren, wie die Papovaviren, das Rous-Sarkom-Virus und auch das Epstein-Barr-Virus, induzieren sehr häufig numerische Aberrationen. Trisomien in der C-Gruppe und Konomien in der G- und D-Gruppe, bzw. in der A- und B-Gruppe, sind die häufigsten Veränderungen. In den mit Papovaviren "in vitro" infizierten menschlichen und tierischen Zellen wechselt die Chromosomenzahl nach einigen Wochen zur hypotetraploidie und Tetraploidie über.

Die durch Viren induzierten strukturellen Aberrationen sind meistens Gaps und offene Brüche vom chromatidalen und chromosomal Typ. Strukturumbauten können nur selten beobachtet werden.

Offensichtlich gibt es keine für ein bestimmtes Virus oder für eine Gruppe von Viren typische Anomalie, die konstant auftritt. Die zuerst beschriebenen Befunde, die eine sub-

terminale sekundäre Konstriktion auf dem langen Arm des Chromosomes Nr. 10 als eine Epstein-Barr-Virus spezifische Anomalie darstellten, erwiesen sich später als nicht zutreffend; jedoch scheint es so, als ob sekundäre Konstriktionen in maligne entarteten Zellen gehäuft auftreten, z.B. auch in Mäuse-leukämiezellen. Auffallend ist das gehäufte Auftreten von "double - minutes" bei den Untersuchungen mit den onkogenen Papovaviren dem Rous-Sarkom-Virus.

Die interchromosomale Verteilung scheint die Chromosomen der A- und B-Gruppe und auf diesen die peripheren Segmente der langen Arme zu bevorzugen, das heißt, daß diese Chromosomen häufiger Brüche aufweisen als es ihrem Anteil an der gesamten Chromosomenmasse entspricht (WEIDERT 1968, FRIEDMANN 1970, BERNARD 1970, MATSANIOTIS 1970).

Zu 3 : Die Beantwortung dieser Frage ist zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht möglich. Eine indirekte Wirkung auf den DNS - Stoffwechsel, eine direkte Wirkung auf die DNS oder die Chromosomenmatrix, eine Wirkung über lysosomale oder zelluläre Enzyme und immunologische Vorgänge werden diskutiert.

Zu 4 : Die Bedeutung der virus - induzierten Chromosomenaberrationen kann noch nicht endgültig beurteilt werden, doch sind sie von potentieller Bedeutung für die Teratogenese, das Altern, die Karzinogenese, für Autoimmunprozesse und für einen Anstieg der genetischen Belastung der Menschen durch Mutationen in den Keimzellen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Amano, K., Shigeta, S., Awano, I., Hinuma, Y.: Chromosomal aberrations of a lymphoblastoid cell line by experimental infection with Epstein-Barr-Virus. *GANN* 64, 309-311 (1973)
2. Ansari, B. M.: Viral-induced chromosomal changes and their role in oncogenesis. *Rév. Eur. Etudes, Clin. et Biol.* 15, 481-482 (1970)
3. Apostolov, K., Almeida, I. D.: Interaction of Sendai (HVI) Virus with human erythrocytes: a morphological study of hemolysis cell fusion. *J. gen. Virol.* 15, 227-234 (1972)
4. Arakaki, D. T., Sparkes, R. S.: Microtechnique for culturing leucocytes of whole blood cytogenetics 820 (1965 I)
5. Aula, P., Nichols, W. W.: The cytogenetic effects of mycoplasma in human leucocyte cultures. *J. Cell. Physiol.* 70, 281-290 (1967)
6. Aula, P., Nichols, W. W.: Lysosomes and virus-induced chromosome breakage. *Exptl. Cell Res.* 51, 595 (1968)
7. Aula, P.: Virus-induced premature chromosome condensation (PCC) in single cells and G-bands of PCC-chromatin. *Hereditas* 74, 81-87 (1973)
8. Avakova, A. N., Rapoport, R. I.: The effect of the measles virus on the chromosomal apparatus of diploid cell strains. *Tsitologiya* 13, 830-836 (1971)
9. Baldauf, W., Stenglain, B., Unglaub-Leisten, I., Bulheller, H., Stiekl, H.: Chromosomenveränderungen an menschlichen Lymphozyten in vivo und in vitro durch Vaccinia-Virus. *Klin. Wschr. Heft* 5, 260-263 (1971)
10. Barski, G., Barbieri, D.: Anomalies chromosomiques consécutives à l'action des virus leucémiques des souris. *Nouv. Rév. Franc. d'Hémat.* 10, 159-161 (1970)
11. Bartach, H. D., Habermehl, K.-O., Diefenthal, W.: Correlation between poliomyelitis-reproduction cycle, chromosomal alterations and lysosomal enzymes. *Arch. Ges. Virusforsch.* 27, 115-127 (1969)
12. Bartach, H. D., Habermehl, K.-O., Diefenthal, W.: Chromosomal damage after infection with Poliomyelitis virus. *Exp. Cell. Res.* 48, 671-675 (1967)
13. Bauchinger, M., Hug, O.: Chromosomenaberrationen nach Radium-Röntgentherapie gynäkologischer Tumoren. *Strahlentherapie* 131, 109-121 (1966)
14. Bauchinger, M.: Chromosomenaberrationen durch medizinische Strahlenanwendung. *Münch. Med. Wschr.* 109, 1008 (1967)

15. Bernard, R., Stahl, A., Giraud, F. et al.: Aberrations chromosomiques au cours des viroses de l'enfant. *Pédiatrie* 25, 255-262 (1970)
16. Bloom, A. D.: Induced chromosomal aberrations in man. *Adv. Hum. Gen.*, 3, 99-153 (1972)
17. Bochkov, N. P.: Spontaneous chromosome aberrations in human somatic cells. *Humangenetik* 16, 159-164 (1972)
18. Boué, A., Boué, J. G.: Alterations chromosomiques induites par des virus dans les cellules humaines. *Nouv. Rév. Franc. d'Hémat.* 10, 151-158 (1970)
19. Brögger, A.: Apparently spontaneous chromosome changes in human leucocytes and the nature of chromatid gaps. *Humangenetik* 13, 1-14 (1971)
20. Dementev, I. V., Barinsky, I. F.: Cytogenetic study of blood leucocytes under chronic viral hepatitis. *Genetika* 8, 115-118 (1972)
21. Denver Report. A proposed standard system of nomenclature of human mitotic chromosomes. *Lancet* 1063 (1960. I)
22. Donner, L., Gönczöl, E.: The influence of inhibitors of macromolecular synthesis on capacity of herpes simplex virus to induce chromosomal damage. *J. Gen. Virol.* 10, 243-250 (1971)
23. Dziekanowska, D., Nolewajka, E.: The effect of some viruses on the chromosomes of cells cultured in vitro. *Genetica polonica* 12, 523-527 (1971)
24. Elizan, T., Fabiyi, A.: Congenital and neonatal anomalies linked with viral infections in experimental animals. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 106, 147-165 (1970)
25. Elliott, S. C., Helm, R. M.: Sequential changes in spleen cell chromosomes during Friend-Virus leukemia. *Cancer Res.* 32, 776-780 (1972)
26. Emanuel, I., Ansell, J. S.: Congenital abnormalities after mumps vaccination in pregnancy. *Lancet* 156-157 (Juli 1971)
27. Emerit, I., Emerit, J., Tosoni-Pittoni, A., Bousquet, O.: Chromosome studies in patients with ulcerative colitis. *Humangenetik* 16, 313-322 (1972 a)
28. Emerit, I., Emerit, J.: Virus-induced chromosomal breakage. *Lancet* 494 (Sept. 1972 b)
29. Epstein, M. A.: The possible role of viruses in human cancer. *Lancet* 1344-1347 (Juni 1971)
30. Freed, J., Schatz, S. A.: Chromosome aberrations in cultured cells deprived of a single amino acid. *Exptl. Cell. Res.* 55, 393-409 (1969)
31. Friedmann, J.: Chromosomenveränderungen bei mit Gelbfieber-Vaccine geimpften Personen. *Dissertation München* (1970)

32. Fogh, J., Fogh, H., Dowling, A. M.: Chromosomes of SV 40 transformed human amniotic cells after mycoplasma infection. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 135, 206-211 (1970)
33. Gebhart, E.: Die Wirkung von L-Cystein auf die Aberrationsauslösung in menschlichen Chromosomen durch chemische Mutagene. *Humangenetik* 10, 115-126 (1970)
34. Gebhart, E.: Experimentelle Beiträge zum Problem der lokalen Achromasien (Gaps). *Humangenetik* 13, 98-107 (1971)
35. Gebhart, E.: Untersuchungen über die Beeinflussung der chromosomenschädigenden Aktivität von Trenimon^R an menschlichen Lymphozyten in vitro durch Aminosäuren. *Humangenetik* 18, 237-246 (1973)
36. Gebhart, E., Schwanitz, G., Hartwich, G.: Chromosomenaberrationen bei Busulfan-Behandlung. *Dtsch. med. Wschr.* 99, 52-56 (1974)
37. Gerber, P., Whang-Peng, J., Monroe, J. H.: Transformation and chromosome changes induced by Epstein-Barr Virus in normal human leucocyte cultures. *Proc. Nat. Acad. Sciences* 63, 740-747 (1969)
38. Golubev, D. B., Zhilova, G. P. et al.: Effects of influenza virus infection on the chromosomal apparatus of cultured cells. *Acta. Virol.* 15, 457-466 (1971)
39. Graf, U.: Chromosomenveränderungen nach Poliomyelitis Schluckimpfung. *Dissertation München* (1970)
40. Halkka, O., Meynadier, G., Vago, C.: Rickettsial induction of chromosomal aberrations. *Hereditas* 64, 126-128 (1970)
41. Hansmann, I.: Chromosomenaberrationen: Häufigkeiten, Ursachen und ihre Bedeutung für den Menschen *Zeitschr. f. Allgemeinmed.* 49, 1408-1417 (1973)
42. Hartmann, M., Brunnemann, H.: Chromosomal aberrations in cytomegalovirus-infected human diploid cell culture. *Acta. virol.* 16, 176 (1972)
43. Hartwich, G., Schwanitz, G.: Chromosomenuntersuchungen nach chronischer Benzol-Exposition. *Dtsch. med. Wschr.* 97, 45-49 (1972)
44. Heneen, W. K., Nichols, W. W., Levan, A., Norrby, E.: Polykarzyocytosis and mitosis in an human cell line after treatment with measles virus. *Hereditas* 64, 53-84 (1970)
45. Henle, W., Henle, G.: Evidence for an oncogenic potential of the Epstein-Barr Virus. *Cancer Res.* 33, 1419-1423 (1973)
46. Higurashi, M., Conen, P. E.: In vitro chromosomal radiosensitivity in "chromosomal breakage synchronomes" *Cancer* 32, 380-383 (1973 a)

47. Higurashi, M., Takagi, T., Toshihiko, N.: Cytogenetic observations in cultured lymphocytes from patients with Down's Syndrome and Measles. *Pediatr. Res.* 7, 582-587 (1973 b)
48. Hirschhorn, K., Lucas, M., Wallace, I.: Precise identification of various chromosome abnormalities. *Ann. Hum. Genet.* Lond. 36, 375-379 (1973)
49. Howe, C., Morgan, C.: Interactions between Sendai-Virus and human erythrocytes. *Journal of Virology* 3, 70-81 (1969)
50. Hossfeld, D. K., Sandberg, A. A.: Das Philadelphia Chromosom. *Klin. Wschr.* 48, 1431-1437 (1970)
51. Huang, C. C., Minowada, J., Smith, R. T.: Reevaluation of relationship between "C" Chromosome - marker and Epstein-Barr Virus. *J. Nat. Cancer Inst.* 45, 815-829 (1970)
52. Huang C. C., Minowada, J.: Chromosome lesions induced in an human hematopoietic cell line by infection Epstein-Barr Virus. *Proc. Sec. Exptl. Biol. Med.* 137, 183-190 (1971)
53. Huang, C. C., Minowada, J.: Differential effects of infection with herpes simplex virus on the chromosomes of human hematopoietic cell lines. *Cancer Res.* 32, 1218-1226 (1972)
54. Iljyinskikh, N. N., et al.: Chromosome aberrations in peripheral blood leucocytes of patients affected by influenza. *Genetika* 8, 157.163 (1972)
55. Johnson, R. T., Rao, P. N.: Mammalian cell fusion: Introduction of premature chromosome condensation interphase nuclei. *Nature* 226, 717-722 (1970)
56. Krishan, A.: Bleomycin-induced fine structural alterations in cultured mouse fibroblasts and human lymphocytes of neoplastic origin. *Cancer Res.* 33, 777-785 (1973)
57. Kundsinn, R. B., Ampola, M., Streeter, S., Neurath, P.: Chromosomal aberrations induced by T-strain mycoplasmas. *J. Med. Genet.* 8, 181-187 (1971)
58. Kunze-Mühl, E., Golob, E.: Chromosomenanalysen nach Ultraschalleinwirkung. *Humangenetik* 14, 237-246 (1972)
59. Larson, S. L., Titus, J. L.: Chromosomes & abortions. *Mayo Clin. Proc.* 45, 60-72 (1970)
60. Macek, M., Seidel, E. H., Lewis, R. T. et al.: Cytogenetic studies of EB-Virus-positive and EB-Virus-negative lymphoblastoid cell lines. *Cancer Res.* 31, 308-321 (1971)
61. Macek, M., Benyesh-Melnick, M.: Chromosomal analysis of Lymphoblastoid cell lines from patients with leukemia, infections, mononucleosis or Burkitt-Lymphoma. *Neoplasma* 19, 51-56 (1972)

62. Matsaniotis, N., Kiossoglu, K. A., Maounis et al.:
Chromosomes in infectious hepatitis. *Lancet* 1421 (Dez. 1966)
63. Matsaniotis, N., et al.: Chromosomes after smallpox
vaccination. *Lancet* 978 (Mai 1968)
64. Matsaniotis, N., et al.: Chromosomal aberrations in infective
hepatitis *J. Clin. Path.* 23, 553-557 (1970)
65. Mc. Dougall, I. K.: Effects of adenoviruses on the chromosomes
of normal human cells and cells trisomic for an E-chromosome.
Nature 225, 456-458 (1970)
66. Mc. Dougall, I. K.: Spontaneous and adenovirus type 12 -
induced chromosome aberrations in Fanconi's anaemia fibroblasts.
Int. J. Cancer 7, 526-534 (1971 a)
67. Mc. Dougall, J. K.: Adenovirus-induced chromosome aberrations
in human cells. *J. Gen. Virol.* 12, 43-51 (1971 b)
68. Matsui, S. I., Wenifeld, H., Sandberg, A. A.: Dependence of
chromosome pulverization in virus-fused cells on events in
the G₂-period. *J. Nat. Cancer Inst.* 47, 401-408 (1971)
69. Mauler, R., Hennessen, W.: Virus induced alterations of
chromosomes. *Arch. f. Virusforsch.* 16, 175-181 (1965)
70. Mella, B.: Chromosomal damage associated with infectious
hepatitis and its possible teratogenetic significance.
Neurology 18, 741-749 (1968)
71. Monteleone, P. C., Cherry, J. D., Monteleone, J. A.:
Chromosomal analysis of cultured skin fibroblasts from patients
with infectious mononucleosis. *Genet. Res. Camb.* 16, 345-348 (1970)
72. Moorhead, P. S., Nowell, P. C., Mellmann, W. I., et al.:
Chromosome preparations of leucocytes from human peripheral blood.
Expt. Cell. Res. 20, 613 (1960)
73. Murken, J.-D., Vogt, D., Baum, V.: Chromosomenveränderungen bei
Viruskrankheiten, insbesondere Varizellen.
Mschr. Kinderheilk. 118, 313-316 (1970)
74. Murken, J.-D., Vogt, D., Zoelch, M.: Chromosomenveränderungen
bei Masern. *Mschr. Kinderheilk.* 116, 381-384 (1968)
75. Nachtigal, M., Melnick, J. C., Bubel, J. S.: Chromosomal changes
in Syrian hamster cells transformed by Simian Virus 40 (SV 40)
and variants of defective SV 40 (Para).
J. Nat. Cancer Inst. 47, 35-45 (1971)
76. Nichols, W. W.: In vitro chromosome breakage induced by
arabinosyladenine in human leucocytes.
Cancer Research 24, 1502-1505 (1964 a)

77. Nichols, W. W., Aula, P., Norrby, E.: Extreme Chromosome breakage induced by measles virus in different in vitro systems. *Hereditas* 51, 380-382 (1964 b)
78. Nichols, W. W., Levan, A., Aula, P., Norrby, E.: Chromosome changes associated with measles virus in vitro. *Hereditas* 54, 101-118 (1965)
79. Nichols, W. W., Aula, P., Levan, A., Heneen, W.: Radioautography with tritiated thymidine in measles- and sendai virus-induced chromosome pulverisations. *J. Cell. Biol.* 35, 257-267 (1967)
80. Nichols, W. W., Peluse, M., Goodheart, C., Allister, R. Mc., Bratt, C.: Autoradiographic studies on nuclei and chromosomes of cultured leucocytes after infection with tritium labeled leucocytes after infection with adenovirus type 12. *Virology* 34, 303-311 (1968)
81. Nichols, W. W.: Interactions between viruses and chromosomes. In *Handbook of Molecular Cytology*. Ed. by Limia - de Faria. *Frontiers of Biology* Vol 15, Chapter 30, 733-750 (1969 a)
82. Nichols, W. W.: Comparison of chemically induced and virus-induced chromosome aberrations. *Federation Proceedings* 28, 1794-1796 (1969 b)
83. Nichols, W. W.: Viruse-induced chromosome abnormalities. *Annual Rev. of microbiology* 24, 479-500 (1970 a)
84. Nichols, W. W.: Viruses and chromosomal abnormalities. *Annals New York Academy of Sciences* 17, 478-485 (1970 b)
85. Nichols, W. W., Levan, A., Kjellen, L., Sheldon, S.: Differential susceptibility of two cell types to the chromosome breaking effects of adenovirus type. *5. Mutation Res.* 12, 191-196 (1971)
86. Nichols, W. W.: Inhibition of virus-induced chromosome damage by interferon. *Mutat. Res.* 16, 340-344 (1976 a)
87. Nichols, W. W.: Genetic hazards of drugs of abuse. In *Drug Abuse - Proc. of the Intern. Conf.* Ed. Chris. I. D. Zazafonetis, 93-100 (1972 b)
88. Nichols, W. W.: Chromosomal changes due to viruses. *Triangle* 11, Nr. 3 103-106 (1972 c)
89. Nichols, W. W.: Cytogenetic techniques in mutagenicity testing. *Agents and Actions* 3/2, 86-92 (1973)
90. Norrby, E., Levan, A., Nichols, W. W.: The correlation between the chromosome pulverization effect and other biologic activities of measles virus preparations. *Exptl. Cell. Res.* 41, 483-491 (1966)

91. Nowell, P. C.: Biological significance of induced chromosome aberrations. *Federation Proc.* 28, 1797 (1969)
92. O'Neill, F. J., Miles, C. P.: Virus-induced chromosome pulverization in human diploid cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. et Med.* 134, 825-830 (1970)
93. O'Neill, F. J., Miles, C. P.: Chromosome changes in human cells induced by Herpes Simplex types 1 and 2. *Nature* 223, 851-853 (1969)
94. O'Neill, F. J., Rapp, F.: Synergistic effect of herpes simplex virus and cytosine arabinoside on human chromosomes. *Journal of Virology* 7, 692-695 (1971)
95. Patau, K.: Chromosome identification and the Denver Report. *Lancet* 933-949 (April 1961)
96. Pawlowitzki, I. H.: Frequency of chromosome abnormalities in abortions. *Humangenetik* 16, 131-136 (1972)
97. Petit, P., Verhest, A., Lecluse, F., et al.: The chromosomes of the EB-virus-positive Burkitt cell line P 3 J. HR 1 K studied by the fluorescent staining technique. *Path. Europ.* 7, 17-21 (1972)
98. Pfeiffer, R. A.: Chromosomal abnormalities in ataxia-teleangiectasia (Louis-Bar's Syndrome) *Humangenetik* 8, 302-306 (1970)
99. Porter, I. H., Benedict, W. F., Brown, Ch. D., Paul, B.: Recent advances in molecular pathology: A review. Some aspects of chromosome changes in Cancer. *Exp. Mol. Path.* 11, 340-367 (1969)
100. Prunieras, M., Delecluse, C.: Anomalies chromatiques consécutives à l'action des virus oncogènes à ADN, sur cellules animales. *Nouv. Rev. Fr. D' Hémat.* 10, 162- (1970)
101. Radyschich, N. S., Zakharchenko, E. B.: The effect of virulent and vaccine strains of measles virus on the chromosomal apparatus of the cell. *Voprosi virusologii* 17, 611-616 (1972)
102. Rapp, F., Duff, R.: Transformation of hamster embryo fibroblasts by herpes simplex viruses type 1 and type 2. *Cancer Res.* 33, 1527-1534 (1973)
103. Ravina, A., Ravina, I. H.: Les malformations d'origine virale et leur prophylaxie. *La presse medicale* 78, 123-125 (1970)
104. Riege, W.: Chromosomenveränderungen bei 75- bis 100-Jährigen. *Dissertation München* (1970)
105. Röhrborn, G., Hansmann, I.: Induced chromosome aberrations in unfertilized oocytes of mice. *Humangenetik* 13, 184-198 (1971)

106. Rott, H.-D., Sölchner, R.: The effect of ultrasound on human chromosomes in vitro. *Humangenetik* 20, 103-112 (1973)
107. Sametinger, H.: Der Einfluß des Rötelnimpfvirus auf die Chromosomen menschlicher Leukozyten. Dissertation München (1971)
108. Sandberg, A. A., Takao, A., Tatsuro, I., Weinfeldt, H.: Definition and morphologic features of chromosome pulverization: a hypothesis to explain the phenomenon. *J. Nat. Cancer. Inst.* 45, 615-623 (1970)
109. Savage, M. O., Moosa, A.: Maternal varicella infection as a cause of fetal malformations. *Lancet* 352-354 (Febr. 1973)
110. Sasaki, M. S., Tonomura, A.: A high susceptibility of Fanconi's Anemia to chromosome breakage by DNA cross-linking agents. *Cancer Res.* 33, 1829-1836 (1973)
111. Schachtschabel, D. O., Cunze, P.: Inhibition of cell division and induction of chromosome aberrations in cultured Ehrlich Ascites tumor cells by deoxyguanosine. *Humangenetik* 10, 127-137 (1970)
112. Schmid, E., Baudinger, M.: Über das zeitliche Verhalten strahleninduzierter Chromosomenaberrationen beim Menschen. *Mutat. Res.* 8, 599-611 (1969)
113. Schroeder, T. M.: Die spontane Chromosomeninstabilität bei den seltenen Erbkrankheiten Fanconi-Anämie und Bloom-Syndrom. *Dtsch. med. Wschr.* 98, 2213 (1973)
114. Shevliaghyn, V. I., Karazas, N. V.: Transformation of human cells by Polyoma and Rous Sarcoma viruses mediated by inactivated Sendai-Virus. *Int. J. Cancer* 6, 234-244 (1970)
115. Spiegelman, S., Kufe, D., Hehlmann, R.: Evidence for RNA-tumor viruses in human lymphomas including Burkitt's disease. *Cancer Res.* 33, 1515-1526 (1973)
116. Starke, G., Hlinak, P.: Grundriß der allgemeinen Virologie. Gustav Fischer Verlag Stuttgart (1972)
117. Stefanescu, D. T., Moanga, M., Teodorescu, M.: Chromosome abnormalities in chronic active hepatitis. *J. Clin. Path.* 25, 705-707 (1972)
118. Stenman, S., Saksela, E.: Susceptibility of human chromosomes to pulverization induced by myxoviruses. *Hereditas* 62, 323-338 (1969)
119. Stenman, S., Nordling, S., Holsti, C. R., Saksela, E.: Chromosome aberrations induced by X-ray therapy and myxovirus infection in human peripheral leucocytes. *Mutat. Res.* 10, 607-616 (1970)

- * Wiederholt, W.: Strahleninduzierte Chromosomenaberrationen nach ²¹⁴Po. Dissertation München 1974
120. Stich, H. F., John, D. S.: Viruses and chromosomes. Progr. med. Virol. 12, 78-127 (1970)
 121. Stich, H. F.: Hammerberg, O., Casto, B.: The combined effect of chemical mutagen and virus on DNA repair, chromosome aberrations and neoplastic transformation. Can. J. Genet. Cytol. 14, 911-917 (1972)
 122. Stoller, A., Collman, R. D.: Viral hepatitis and Down's Syndrome a) Lancet 339 (Aug. 1966)
 b) Lancet 859 (Okt. 1966)
 123. Takagi, N., Kato, H., Aya, T.: Relation of virus-induced cell fusion and chromosome pulverization to mitotic events. J. Nat. Cancer Inst. 43, 335-347 (1969)
 124. Unglaub-Leisten, I.: Chromosomenveränderungen durch Impfungen und Langzeitimmunität - ein T-Zellenphänomen? Münch. Med. Wschr. 115, Nr. 35, 1503-1507 (1973)
 125. Vogt, D., Murken, J.-D., Friedmann, I.: Chromosomenveränderungen nach Gelbfieberimpfung. Monatsschr. f. Kinderheilk. 118, 316-317 (1970)
 126. Vormittag, W., Paumgartner, G.: Akute Virushepatitis, Australia-Antigen und Chromosomen. Klin. Wschr. 51, 445-449 (1973)
 127. Vormittag, W.: Chromosomenuntersuchungen bei akuter Virushepatitis. Humangenetik 15, 44-65 (1972)
 128. Wahren, B., Lampert, Goetz, O.: Herpes viruses and chromosomal alterations seen with light and whole-mount electron microscopy. Exptl. Cell. Res. 75, 271, 274 (1972)
 - * 129. Winterhoff, H.: Vorversuche über Veränderungen an Zellen und Chromosomen in Kulturen von Zellen menschlicher Gewebe und von Affennieren nach Behandlung mit verschiedenen Zusätzen. Med. Welt 42, 2468-2472 (1967)
 130. Weidert, B.: Chromosomenveränderungen bei an Windpocken erkrankten Kindern. Dissertation München (1969)
 131. Wolman, S. R., Cooper, L. Z., Morrow, L. E., Zirinig, Ph. R.: Lack of chromosomal breakage in congenital rubella. Pediatrics 52, 213 (1973)
 132. Zatsëpin, N. I., Stopchanskaya, A. G., et al.: Comparative study of chromosome aberrations in cell cultures by tumorigenic and non tumorigenic adenoviruses. Acta. Virol. 14, 411 (1970)
 133. Zoelch, M.: Chromosomenaberrationen bei an Masern erkrankten Kindern. Dissertation München (1968)
 134. Zuckermann, A. I., Taylor, P. E., Jacobs, I. P., Cones, C. A.: Chromosome studies of virus-infected semi-continuous human embryonic liver cells. Br. J. exp. Path. 51, 92-96 (1970)

Lebenslauf

Ich, Gabriele Alff, wurde am 24.1.1950 als zweites Kind des Bankdirektors Kurt Alff und seiner Frau Ermiony, geb. Argyropoulos, in Ingolstadt geboren. Nach 4 Grundschuljahren in Bayreuth besuchte ich neun Jahre ein neusprachliches Gymnasium in München und Regensburg, wo ich im Juni 1969 das Abitur ablegte.

Mit dem Medizinstudium begann ich im Wintersemester 1969/70 an der Universität München, bestand im Oktober 1970 das Vorphysikum und im April 1972 das Physikum. Im Sommersemester 1973 begann ich unter der Anleitung von Herrn Priv.-Doz. J.-D. Murken in der Kinderpoliklinik München mit meiner Dissertation.

Im Herbst 1975 trat ich zum Staatsexamen an und bestand es am 18. Dezember 1975.

Herrn Priv.-Doz. Dr. J.-D. Murken möchte ich für die Überlassung des Themas, für viele hilfreiche Ratschläge und für die Diskussion und Korrektur der Arbeit danken.

Herrn Prof. Dr. H. Spiess danke ich für die Übernahme des Korreferates.

Frau Dr. rer. nat. G. Vergani danke ich für ihre Hilfe bei der Beschaffung der Literatur.

